

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Ekologie



Bc. Jan Mengr

Akumulace těžkých kovů v tkáních bezobratlých živočichů na struskopopílkových odkalištích

Accumulation of heavy metals in tissues of terrestrial arthropods at fly ash deposits

Diplomová práce

Vedoucí práce: RNDr. Robert Tropek, PhD.

Praha, 2017

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 2. 5. 2017

Podpis:

Jan Mengr

Poděkování

Na prvním místě bych rád poděkoval svému školiteli Robertu Tropkovi za zadání a vedení této práce, trpělivost, motivaci, poskytnutí řady podkladů a dobré rady. Rovněž bych rád poděkoval Jakubu Strakovi za determinaci blanokřídlých a Stanislavě Matějkové s Martinem Mihaljevičem za měření koncentrací prvků ve vzorcích. Filipu Tichánkovi děkuji za poradenství a Gabriele Wofkové děkuji za poskytnutí fylogenetické matice pro sestavení fylogenetického stromu. Nemohu opomenout poděkovat Jiřímu Hadravovi, Danu Bendovi a Zuzaně Matějkové za pomoc při sběru materiálu. Velký dík patří samozřejmě všem mým blízkým za podporu po celou dobu studia.

Podstatná část této práce byla hrazena Grantovou agenturou ČR (P504/12/2525)

Obsah

| | |
|---|-----------|
| 1. Úvod a cíle práce | 7 |
| 2. Uvedení do problematiky | 8 |
| 2.1. Píščiny mizí a nahrazuje je popílek..... | 8 |
| 2.2. Popílkoviště a jejich význam pro psamofilní druhy žahadlových blanokřídлых..... | 10 |
| 2.3. Vybrané prvky v popílku | 12 |
| 2.4. Vlivy vybraných prvků na organismy | 13 |
| Hypotézy..... | 21 |
| 3. Materiál a metody | 21 |
| 3.1. Lokality | 21 |
| 3.2. Sběr materiálu | 22 |
| 3.3. Zpracování vzorků | 23 |
| 3.4. Statistické analýzy..... | 24 |
| Koncentrace prvků v substrátu podle typu substrátu | 25 |
| Koncentrace prvků v substrátu podle jednotlivých lokalit..... | 25 |
| Koncentrace prvků ve tkáních hmyzu podle typu substrátu | 26 |
| Koncentrace prvků ve tkáních hmyzu podle typu substrátu a potravní strategie | 26 |
| 4. Výsledky | 26 |
| 4.1. Koncentrace prvků v substrátu popílkovišť a písčín..... | 27 |
| 4.1. Koncentrace prvků ve tkáních žahadlových blanokřídлых | 29 |
| 4.1. Koncentrace prvků ve tkáních žahadlových blanokřídлых | 29 |
| 4. Diskuze | 35 |
| 5.Závěr..... | 38 |
| 6.Literatura..... | 39 |
| 7. Přílohy | 51 |

Abstrakt

Přirozená stanoviště psamofilních druhů žahadlových blanokřídlých, kterými jsou vnitrozemské písčiny, mizí, kvůli čemuž se tyto druhy stávají ohroženými nebo dokonce vymírají. V poslední době se však ukazuje, že žahadloví blanokřídlí nalézají náhradu za písek v popílku odkališť. Popílek je ovšem bohatý na těžké kovy, které do svých tkání akumulují rostliny, obratlovci a v neposlední řadě také bezobratlí. Tyto prvky pak různým organismům působí rozličné potíže, od mírných komplikací až po těžké komplikace mnohdy končící smrtí jedince. Cílem této práce je zjistit, zda a případně které vybrané prvky žahadloví blanokřídlí do svých tkání akumulují v závislosti na typu substrátu a potravní strategii. Pro účely této práce bylo vybráno celkem sedmnáct prvků, u nichž je předpoklad výskytu na odkališti a u nichž byl studiemí různých organismů prokázán toxický vliv. Koncentrace těchto prvků byla měřena v substrátu na čtyřech lokalitách a ve tkáních pětapadesáti druhů žahadlových blanokřídlých. Testován byl vztah mezi typem substrátu a množstvím prvků v něm obsažených pomocí t-testu a porovnávány jednotlivé lokality z hlediska koncentrace prvků v substrátu pomocí metody PCA. Dále byl testován vztah koncentrace vybraných prvků ve tkáních blanokřídlých k typu substrátu pomocí metody GLM a GEE a vztah koncentrace vybraných prvků ve tkání blanokřídlých k typu substrátu a potravní strategii pomocí metody GEE. Při použití metody GEE byla použita fylogenetická korekce. Výsledky ukazují, že se vybrané prvky skutečně nacházejí v popílku ve vyšších koncentracích než v písku a že ačkoli si jsou písčiny z hlediska koncentrací prvků podobné, odkaliště se od sebe liší. Dále se ukázalo, že blanokřídlí na odkalištích v závislosti na typu substrátu akumulují do svých tkání jen část vybraných prvků a že potravní strategie může mít na akumulaci vybraných prvků významný vliv. Poznatky, které tato práce přinesla, jsou klíčové pro další výzkum vlivu vybraných prvků na žahadlové blanokřídlé z odkališť.

Klíčová slova: těžké kovy, žahadloví blanokřídlí, vátý písek, odkaliště, písek, popílek, ekotoxikologie, akumulace

Abstract

Natural habitats of psamophilous species of aculeate hymenoptera, which are inland drift sand, are disappearing. This causes these species to become threatened or even extinct. However, ash contains heavy metals that are accumulated in tissues by plants, vertebrates, and invertebrates. These elements cause various organisms different complications, ranging from mild complications to serious complications often ending with the death of an individual. The aim of this work is to determine whether and, if so, what selected elements of aculeate hymenoptera accumulate in their tissues, depending on the type of substrate and the food strategy. For the purpose of this work, a total of seventeen elements have been selected, which are expected to occur in coal fly ash and have been shown to have toxic effects through studies of various organisms. Concentrations of these elements were measured in the substrate of four sites (two sand dunes and two ash deposits) and in the tissues of fifty-five species of aculeate hymenoptera. The relationship between the type of substrate and the number of elements contained in it was tested using t-test and the individual sites compared with respect to the concentration of elements in the substrate by the PCA method. In addition, the concentration of selected elements in the hymenoptera relative to the substrate type was tested by the GLM and GEE method and the relation of the concentration of selected elements in the hymenoptera tissue to the substrate type and the feeding strategy using the GEE method. Phylogenetic correction was used when using the GEE method,. The results show that the selected elements are actually found in fly ash at higher concentrations than in sand and that although sands are similar in terms of element concentration to each other, the ash deposits differ from each other. Further, it has been shown that the hymenoptera from coal fly ash deposits, related on the type of substrate, accumulate only some of the selected elements in their tissues and that the food strategy can have a significant effect on the accumulation of selected elements. The knowledge gained by this work is crucial for further research on the influence of selected elements on tailstocks from ponds.

Key words: heavy metals , Aculeata, drift sand, coal fly ash deposit, sand, fly ash, ecotoxicology, accumulation

1. Úvod a cíle práce

Žahadloví blanokřídlí svou rozmanitostí přímo vybízejí k volbě jako modelová skupina bezobratlých pro studium postindustriálních stanovišť. Většina z nich má malé areály, jsou mezi nimi zastoupeni masožravé i býložravé druhy a jsou atraktivní skupinou vzhledem ke své funkci opylovačů v ekosystémech. S malým areálem ovšem souvisí i úzká specializace na konkrétní typy stanovišť, která v mnohých případech v přírodě mizí (Konvička et al. 2005; Macek et al. 2010)

Obecně se diverzita stanovišť v krajině zmenšuje. Ubývají přechodné typy stanovišť, jakými jsou například ranně sukcesní plochy (Riksen et al. 2006). Příkladem takového stanoviště jsou vnitrozemské písčiny. Na písek jakožto substrát jsou mimo jiných vázány psamofilní druhy žahadlových blanokřídlých (Macek et al. 2010). Problém tkví v tom, že díky činnosti člověka, přírodní váte písčiny mizí. Jednak je postupný zánik těchto stanovišť způsoben aktivním zalesňováním, ale také absencí velkých býložravců a požárů coby disturbančních činitelů (Konvička et al. 2005).

V tomto bodě se projevuje ochranný potenciál postindustriálních stanovišť. Žahadloví blanokřídlí se totiž z písčin přesouvají na strukturou podobný jemnozrnný substrát, jakým je popílek (Řehounek et al. 2010; Tropek and Řehounek 2012; Tropek et al. 2013). Popílek však není ideální náhradou za písek. Těžké kovy obsažené v popílku ho totiž činí potenciálně toxickým pro žahadlové blanokřídlé podobně, jako je tomu například u obratlovců (Hopkins et al. 1998; Rowe et al. 2001; Hopkins et al. 2002; Ganser et al. 2003).

U různých skupin od rostlin (Caroli et al. 1999; Zákravský et al. 2004) přes obojživelníky (Hopkins et al. 1998; Rowe et al. 2001) po vodní (AbdAllah 2014) a terestrické bezobratlé (Eeva et al. 2004; Gramigni et al. 2011; Gramigni et al. 2013) byla dokumentována akumulace těžkých kovů na odkalištích a také více či méně výrazné projevy vlivu toxicity těchto prvků na organismy. Existují však také poznatky o odolnosti vůči vlivům těžkých kovů nebo o jejich účinné detoxikaci. Takové vlastnosti pak některé organismy předurčují k úspěšnému přežití na odkalištích.

V této práci je zkoumán rozdíl mezi dvěma písčinami a dvěma odkališti. Zkoumáno je jak chemické složení substrátu pro zjištění koncentrací vybraných prvků, zejména těžkých kovů v něm obsažených, tak i vliv substrátu na koncentraci vybraných prvků ve tkáních žahadlových blanokřídlých. Přítomnost těžkých kovů je

totiž prvním upozorněním na možnost, že odkaliště nepředstavuje pro žahadlové blanokřídlé náhradní substrát, nýbrž že jde o smrtelnou past.

Cíle práce

- Zjistit zda má typ substrátu vliv na akumulaci vybraných prvků do tkání blanokřídlých.
- Zjistit zda má vliv substrátu a potravní strategie vliv na akumulaci vybraných prvků do tkání blanokřídlých.

2. Uvedení do problematiky

V naší krajině chybí zejména stanoviště s ranou sukcesí a zároveň nedostatkem živin. Takovým stanovištěm jsou například vnitrozemské písčiny (Konvička et al. 2005). Je tomu tak z několika důvodů. Prvním z nich je potlačení výskytu disturbančních činitelů v krajině. Člověk se například v minulosti zasloužil o vymizení velkých herbivorů a v dnešní době zabraňuje například požárům. Spolu s modernizací zemědělství, kdy vznikají jednolitě rozsáhlé monokultury, se člověk zasloužil o to, že už v naší krajině nezbylo mnoho stanovišť vhodných pro volně žijící druhy rostlin a živočichů (Konvička et al. 2005).

2.1. Písčiny mizí a nahrazuje je popílek

Vnitrozemské písčiny jsou v dnešní době na pokraji vymizení (Konvička et al. 2005). Modelovou zemí budiž Holandsko, kde se zhruba od devatenáctého století začalo se zalesňováním dun převážně borovicí lesní (*Pinus silvestris*) a došlo tak ke snížení rozlohy dun i míry větrné eroze a následně nastalo urychlení už tak problematického přirozeného zarůstání písčin (Riksen et al. 2006). Sukcese byla později ještě více urychlena upuštěním od využívání písčin pro pastvu a vlivem těchto skutečností pak zanikly dříve otevřené písečné duny a s nimi se ztratilo i mnoho na písek vázaných druhů (Riksen et al. 2006). Dále dochází k ukládání atmosférického dusíku do substrátu písčin, čímž je stimulován růst řas. Tento jev urychluje stabilizaci zbylých otevřených písčin a tím i jejich zánik (Van den Ancker et al. 1985).

Poslední lokality s vátými písky jsou také místy, kde lze najít kriticky ohrožené druhy rostlin a živočichů vázaných na suchá a teplá stanoviště s jemnozrnným, mechanicky nestabilním substrátem. Společenstva, která žijí na píscích, jsou druhově chudá, přičemž fauna těchto společenstev je vysoce specializovaná a přizpůsobená extrémním podmínkám panujícím na písčínách, jakými jsou vysoká teplota, sucho a vysoká míra zejména větrné eroze (Riksen et al. 2008).

Například významná přírodní rezervace s příznačným názvem Váté písky, jejíž písek pochází ze sedimentů řeky Moravy a byl vyvát během pleistocénu, hostí několik ohrožených druhů rostlin vázaných teplá slunná stanoviště s prosychavým substrátem (Hoskovec 2008). Jiná písčina a přírodní památka Vesecký kopec je též zajímavou lokalitou. I když se o vyhlášení přírodní památky zasloužili spíše entomologové, lze na lokalitě najít několik zvláště chráněných druhů rostlin (Gutzerová 2013).

Pro tuto práci je však na písčínách zajímavější výskyt ohrožených písčinných druhů bezobratlých, zejména pak žahadlových blanokřídlých. Výše zmíněná přírodní památka Vesecký kopec je totiž zajímavá nejen z hlediska výskytu rostlin, ale i bezobratlých. Vyskytuje se zde několik zvláště chráněných druhů pavouků (Dolanský 2002), síťokřídlého hmyzu (Dolanský 1998) a brouků (Prausová et al. 2007 podle Mlejnek a Klouček 2004). Jedním z nejvýznamnějších nálezů na této lokalitě je zástupce mravencovnickovitých brouků *Anthicus bimaculatus* (Prausová et al. 2007 podle Kejval a Mikát 2006), který je kriticky ohroženým druhem a jeho výskyt byl pro území potvrzen po celých sto letech (Prausová et al. 2007).

Zdá se, že nejbohatší skupinou písčiny jsou blanokřídlí. Nachází se zde hned několik kriticky ohrožených druhů, jako zlatěnky *Holopyga chrysonota* a *Chrysis indica* (Prausová et al. 2007 podle Udržal in litt. 2007), dlouhoretky *Bembix rostrata* (Prausová et al. 2007 podle Udržal pers. comm. 2007), kutilka *Tachysphex helveticus*, ploskočelka *Lasioglossum intermedium*, ruděnka *Sphecodes marginatus* nebo nomáda *Nomada moescheri*. Z ohrožených druhů lze jmenovat kutilku *Ammophila pubescens*, pískorypku *Andrena apicata* nebo ploskočelku *Lasioglossum quadrinotatum* (Prausová et al. 2007 podle Bogusch in litt. 2007). Největší část tvoří zranitelné druhy, z nichž lze jmenovat: zlatěnky *Chrysis germani* a *Pseudomalus violaceus* (Prausová et al. 2007 podle Udržal in litt. 2007), vosu prostřední (*Dolichovespula media*), kutilku *Bembecinus tridens*, uzlatku *Cerceris arenaria* (Prausová et al. 2007 podle Bogusch in litt. 2007) a mnoho dalších.

Pokud by například tyto zmíněné písčiny zanikly, ať už vlivem nedostatku péče o ně stálými disturbancemi, nebo by byly dokonce cíleně zalesněny, některé druhy, které na nich žijí, by pravděpodobně z našeho území vymizely.

Váté písky jsou eolické sedimenty, vzniklé zvětráním mořských usazenin nebo naplavenin řek a potoků. Pro váté písky je klíčové působení větru. V první řadě totiž vítr ze sedimentů odvál nejjemnější částice a na místě zůstal jen křemenný písek s minimálním podílem jiných minerálů. Vlivem větrných turbulencí se pak dále jednotlivá zrnka písku zaoblila (Koster 2009). Duny vátého písku jsou tvořeny poměrně jemným materiálem, jehož jednotlivé frakce tvořící dunu mají průměr zrněk pohybující se v rozmezí mezi 150 a 420 mikrometru (Koster 2009).

Váté písky se vyznačují velkými rozdíly mezi denní a noční teplotou. Typické jsou i rychlé změny vlhkosti substrátu (Exeler et al. 2009). To proto se obyvatelé vátých písčin vyznačují adaptací na extrémní výkyvy teplot a vlhkosti s častými disturbancemi (Konvička et al. 2005; Exeler et al. 2009).

Nabízí se tedy otázka náhradního biotopu za vátý písek. Řešení existuje. Prostředím s holým jemným substrátem, s vysokou prosychavostí a vysokými denními teplotami jsou odkaliště (Tropek et al. 2013).

2.2. Popílkoviště a jejich význam pro psamofilní druhy žahadlových blanokřídlých

Popílek je svou strukturou podobný o řád jemnějšímu vátému písku. Zrnka popílku jsou totiž v průměru menší než deset mikrometrů a mohou na první pohled připomínat písek (Ramezaniapour 2014; Řehounek et al. 2010).

Popílek a spolu s ním i struska vznikají jako odpadní materiál při spalování uhlí v elektrárnách a teplárnách, nebo také ve větších továrnách (Řehounek et al. 2010).

Hoření uhlí je koncentrační proces, při kterém organická látka z největší části vyhoří. Při tomto procesu dále unikají všechny lehce těkavé složky. Zbývá již výše zmíněný popel a struska. Anorganické nespálené části uhlí, hlavně minerály, se nazývají popeloviny. Jako popeloviny jsou označovány příměsi anorganických prvků a jejich sloučenin, které jsou součástí uhlí. Původ mají v buňkách rostlin, nebo je do rašeliniště, které dalo vzniknout uhlí, naplavila podzemní voda (Kolář 1969).

Obsah popelovin v uhlí závisí na celkovém procesu vzniku uhlí a vlivu prostředí, které se přitom uplatnilo. Prvek, například železo, může být v jednom uhlí vázán jako sulfid, v jiných jako uhličitán. I když se v tomto případě při hoření uhlí vyvine

některý z oxidů železa, je proces, který vede ke vzniku těchto oxidů, pokaždé jiný. Fyzikální a chemické vlastnosti popílku proto závisí na výchozím materiálu a na charakteru spalování. Například lze říci, že čím jemněji rozemleté je použité palivo, tím jemnější jsou nespalitelné zbytky, tedy popílek (Kolář 1969).

V praxi je používáno několik možných způsobů ukládání popílku. Jedna z možností, používaná do 90. let 20. století, je ukládání tzv. hydrickou cestou, kdy je popílek a další odpady ve směsi s vodou odváděn do odkalovacích nádrží nebo lagun, kde poté všechny pevné částice sedimentují. Takovému místu se říká odkaliště. Druhou možností je popílek v suchém stavu dopravit na skládku pomocí lanovek nebo dopravních pásů. Takové místo se nazývá složiště popílku. Tato metoda je však kvůli vysoké prašnosti velice ojedinělá (Řehounek et al. 2010).

Poté, co bylo v 90. letech minulého století zavedeno odsíření elektráren, došlo snad jen kromě malých producentů popílku, ke změně způsobu ukládání. Vedlejším produktem odsíření je totiž tzv. energosádrovec. Ten se míchá s popílkem a struskou, přičemž vzniká směs, tzv. stabilizát., který pokud po uložení zmokne, ztuhne. Stabilizovaná směs sice nepráší, ale zato je obtížná její obnova (Řehounek et al. 2010).

Fyzikální vlastnosti popílku popsané výše, spolu s vysokými denními teplotami zamezují mnohým druhům kolonizovat popílek a ten se tak stává vhodným pro osídlení psamofilními druhy živočichů, nebo některými ne vždy psamofilními rostlinami (Řehounek et al. 2010). Například na struskopopílkovém odkališti v Třinci byly objeveny významné druhy rostlin, jejichž stanoviště s vátým pískem příliš nesouvisí. (Ladányi 2009).

Vezmeme-li v potaz téma diplomové práce, je zdaleka nejzajímavější výskyt žahadlových blanokřídlých na odkalištích. Na toto téma byl proveden rozsáhlý průzkum v oblasti Polabí, kdy výsledkem studie dvou tamních odkališť bylo nalezení 227 druhů žahadlových blanokřídlých, z nichž 4 druhy uvedené v červené knize byly do té doby považovány u nás za vyhynulé, konkrétně *Arachnospilla westerlundii*, *Evagetes littoralis*, *Halictus smaragdulus* a *Nysson hrubanti*. Dále bylo nalezeno 13 kriticky ohrožených druhů s pouhou hrstkou známých lokalit, dále 22 ohrožených a 33 zranitelných druhů. Z celkového počtu druhů bylo 31 výhradně specialisty na váté písky, kteří se nevyskytují na jiných méně ohrožených jemnozrnných

substrátech. Zdá se, že popílek se pro některé druhy žahadlových blanokřídlých stává posledním útočištěm (Tropek et al. 2013).

Bohužel popílek je na rozdíl od písku poměrně bohatý na těžké kovy, které mnohým živočichům působí někdy až smrtelné potíže (Hopkins et al. 1998).

2.3. Vybrané prvky v popílku

Potenciální nebezpečí odkališť, coby náhradního biotopu za váte písky je ukryto v samotném složení popílku. Chemická charakteristika popílku se významně odvíjí od geologických podmínek na nalezišti uhlí a od různých postupů využívaných při jeho spalování v elektrárnách. Proto má popílek z odlišných tepelných elektráren odlišné složení (Shaheen et al. 2014). Popílek je možné rozlišovat na dva typy v závislosti na typu spalovaného uhlí. Za první typ F, vznikající spalováním antracitu a černého uhlí s obsahem CaO méně než 7% a za druhý typ C, vznikající spalováním hnědého uhlí s obsahem vápníku až 30% (Wang and Wu 2006). Právě obsah vápníku a také obsah síry v uhlí mají vliv na výsledné pH popílku, které se tak pohybuje mezi 4,5 a 13,25 (Riehl et al. 2010). Jak lze očekávat, popílek vzniklý spálením uhlí s vyšším podílem S je kyselější, než popílek vzniklý spálením uhlí s vyšším podílem CaO. (Jala and Goyal 2006). Hodnota pH popílku je totiž důležitá z hlediska dostupnosti vybraných prvků pro rostliny. Dostupnost vybraných prvků totiž koreluje s poklesem pH popílku (Lopareva-Pohu et al. 2011).

Těžké kovy jsou významnými environmentálními polutanty, jejichž toxicita je závažným environmentálním problémem. Pojem „těžký kov“ bývají obvykle označovány metalické prvky, které jsou toxické nebo jedovaté i při malých koncentracích (Lenntech Water Treatment and Air Purification 2017). Podobně specifikuje těžké kovy i Duffus (2002), podle kterého lze takto označit kov nebo polokov, který představuje hrozbu pro životní prostředí, bez ohledu na jeho hustotu.

Prvky pro účely této práce byly vybrány podle dostupných studií, převážně obratlovců, zabývajících se ekotoxikologií odkališť uvedených v následující kapitole a podle studií složení popílku (viz Tabulka 1). Zároveň bylo nutné brát ohled na proveditelnost měření koncentrace prvků ve tkáních blanokřídlého hmyzu vzhledem ke zvolené metodě měření. Tímto způsobem byly nakonec vybrány následující prvky, nejen těžké kovy: Ag, Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, Se, Sr, V a Zn.

U těchto prvků existují důkazy o negativním vlivu na organismy při zvýšených koncentracích.

Tabulka 1: Koncentrace vybraných prvků v popílku dle studií

| Prvky s vyšší koncentrací (g.kg ⁻¹) | Studie popílku | | | | |
|---|------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------|
| | Riehl et al. (2010) | Jala and Goyal (2006) | Tripathi et al. (2009) | Lopareva-Pohu et al. (2011) | Hopkins et al. (1998) |
| Al | 108,5 | 312 | neměřeno | 0,47 | 15,78 |
| Fe | 36,6 | 68 | 0,0032 | 0,31 | neměřeno |
| Prvky s nižší koncentrací (mg.kg ⁻¹) | | | | | |
| | Riehl et al. (2010) | Jala and Goyal (2006) | Tripathi et al. (2009) | Lopareva-Pohu et al. (2011) | Hopkins et al. (1998) |
| Ag | neměřeno | neměřeno | neměřeno | neměřeno | 0,048 |
| As | neměřeno | 6,2 | Pod limitem detekce | 20,4 | 39,64 |
| Ba | neměřeno | neměřeno | neměřeno | neměřeno | 83,8 |
| Cd | 0,03 | 1,9 | 13,4 | neměřeno | 0,25 |
| Co | 26 | 58 | 21,1 | 17 | 6,42 |
| Cr | 148 | 330 | 38,2 | 46 | 10,87 |
| Cu | 57 | 0,002 | 65,8 | 38 | 18,39 |
| Hg | neměřeno | neměřeno | Pod limitem detekce | 0,40 | neměřeno |
| Mn | 679 | 739 | 0.006 | 418 | 29,30 |
| Ni | 88 | 13 | 44.2 | 48 | 13,73 |
| Pb | 97 | 35 | 20.0 | 39 | 6,46 |
| Se | neměřeno | 3,6 | neměřeno | neměřeno | 4,38 |
| Sr | neměřeno | neměřeno | neměřeno | neměřeno | 55,82 |
| V | 182 | neměřeno | neměřeno | neměřeno | 28,77 |
| Zn | 167 | 79 | 57,7 | 85 | 27,10 |

2.4. Vlivy vybraných prvků na organismy

Lze předpokládat, že **rostliny**, coby zdroj potravy pro herbivory, pro ně představují významný zdroj vybraných prvků. Vzhledem k tématu práce nelze opomenout italskou studii, zabývající se koncentrací As, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Pt, Sn, V a Zn v medu včel medonosných. Studie cílí na možnost využít med jako indikátor znečištění. Pro tuto práci je však zajímavější to, že nektar obsahuje

v různých koncentracích zmíněné prvky a je tedy pravděpodobně zdrojem akumulace vybraných prvků do těl herbivorních blanokřídlých (Caroli et al. 1999).

Studie zkoumající akumulaci Mg, Mn, K, Fe, Cu, Co, Cr, Ni, Pb a Zn v rostlinách z odkaliště elektrárny Chvaletice se zabývá přímo tím, ve kterých částech rostliny se jaké prvky shromažďují. Ukázalo se, že kovy se hromadí zejména v kořenech, zatímco biogenní prvky se hromadí v listech a stonku (Zákravský et al. 2004). To by mohlo napovídat, které prvky by mohl akumulovat herbivor v závislosti na části rostliny, kterou se živí.

Nejčastějším předmětem studie těžkých kovů v rostlinách je ale jejich vliv na samotné rostliny. Vybrané prvky se ve vyšších koncentracích na rostlinách podepisují vesměs podobně. Například Zn negativně ovlivňuje metabolismus rostlin, což má za následek zpomalení růstu nadzemních i podzemních částí rostliny (Fontes and Cox 1998). Podobný je i vliv Pb, které v závislosti na koncentraci zpomaluje růst rostlin, například sezamu indického (*Sesamum indicum*) (Kumar et al. 1993). O fytotoxickém působení Co na rostliny je poznatků méně. Studie na rajčatech (*Lycopersicon esculentum* L.) poukazují na negativní vliv Co na biomasu rostliny. O něco významněji na rostliny působí Cd, Cu a Mg, kdy Cd způsobuje mimo zpomalení růstu také chlorózu listů a může zapříčinit až smrt rostliny (Guo et al. 2008). Cu v půdě působí na rostlinu jako cytotoxin. Působí oxidativní stres a poškozuje rostlinu. To vede ke zpomalení růstu a chloróze listů (Lewis et al. 2001). Zajímavá je toxicita Mg, která se u některých druhů rostlin projevuje chlorózou starších listů a postupuje směrem k mladším. U jiných druhů se naopak vliv Mg začne projevovat poškozením nejmladších listů (Bachman and Miller 1995). Jiné prvky na rostliny působí ve formě iontů. V případě niklu jsou to ionty Ni^{2+} , které způsobují chlorózu a nekrózu listů (Pandey and Sharma 2002). Podobně se projevuje vliv Fe^{2+} . Ionty v rostlině zapříčiňují tvorbu volných radikálů, které nevratně narušují buněčnou strukturu a poškozují membrány, DNA a proteiny (De Dorlodot et al. 2005)

Naprostá většina dostupné literatury zabývající se ekotoxikologií bezobratlých z odkališť je zaměřena na vodní prostředí. **Vodní bezobratlí** však mají k těm terestrickým blíže než obratlovci. Oproti terestrickému prostředí má vodní tu vlastnost, že se některé prvky ze sedimentů vyluhují do vody a jsou pak v některých případech lépe dostupné. Je proto dobré se nejprve zaměřit na to, jaký je zdroj naakumulovaných prvků u vodních bezobratlých, neboť se zdá, že některé prvky jsou

významněji akumulovány z potravy a jiné z prostředí. Navíc v procesu akumulace prvků v tkáních hrají roli zprostředkovatele různé procesy zahrnující endocytózu, membránové kanály a pasivní ligandy (AbdAllah 2014).

Například u koretry *Chaoborus punctipennis* bylo při laboratorním experimentu zjištěno, že naakumulované kadmium pochází z potravy a kadmium rozpuštěné ve vodě má jen zanedbatelný vliv (Munger and Hare 1997). Při jiném laboratorním experimentu byla sledována akumulace zinku a bylo zjištěno, že zinek v jepicích *Centroptilum triangulifer* pochází též z potravy (Kim et al. 2012). Komplexnější studie střechatky *Sialis velata* ukázala, že z potravy, kterou tvořil *Chironomus riparius*, za jediný týden naakumulovaly stálou hladinu arzenu, kadmia, kobaltu, mědi, olova a zinku. Naproti tomu vystavení kontaminované vodě nevedlo k pozorovatelným změnám (Croisetièere et al. 2006).

Jak už bylo zmíněno, u některých prvků byla také pozorována akumulace z vody. Toto tvrzení podporuje jiná studie koretry *Chaoborus flavitans*, která odhalila, že 65% naakumulovaného niklu pochází z vody (Ponton and Hare 2010). U chrostíků *Hydropsyche* byla pozorována silná korelace mezi akumulací zinku, mědi, olova, kadmia, thallia a antimonu a jejich koncentrací ve vodě a v sedimentech (Solà and Prat 2006).

U raků *Procambarus acutus* byl vlivem arzenu, kadmia, chromu, mědi a selenu pozorován zvýšený výdej energie (Standart Metabolic Rate) zpomalující jejich růst (Rowe et al. 2001). Naproti tomu u ostatních studovaných druhů nebyly vlivem prvků obsažených v popílku pozorovány žádné potíže. Studie mlže, korbikuly asijské (*Corbicula fluminea*), sice odhalila akumulaci arzenu, selenu, kadmia a rtuti, ale nebyly pozorovány žádné potíže. Mlži vlivem teplejší vody rostli do velkých rozměrů i v místech s největší koncentrací těchto prvků a nebyl proto pozorován vliv na růst (Peltier et al. 2009). Při jiné studii, kdy byly larvy vážek *Anisoptera: Libellulidae* vystaveny vodě s kadmíem, olovem a mědí se ukázalo, že jsou larvy tolerantní k vysokým hladinám kadmia a olova v řádech mg/L, ale k mědi jen o koncentraci 150 µg/L (Tollett et al. 2009).

Z dostupných informací lze vyvodit, že vodní bezobratlí mají vůči toxinům možný obranný mechanismus. Tento předpoklad by mohla potvrdit studie jepice *Centroptilum triangulifer*, která odhalila sice vyšší akumulaci zinku u larev než u dospělců, zároveň však larvy při metamorfóze většinu naakumulovaného zinku

ztratily (Kim et al. 2012). U chrostíků *Hydropsyche* s naakumulovaným zinkem, mědí, olovem, kadmiem, thaliem a antimonem bylo dokonce pozorováno, že stačí 24 hodin k tomu, aby se jedinci zbavili až 75% z naakumulovaného množství těchto prvků v těle (Solà and Prat 2006). Procesu detoxikace se věnuje i jiná studie chrostíků *Hydropsyche californica*, kdy bylo pozorováno, že jedinci dříve vystavení kadmiu se tohoto prvku zbavují stejně rychle jako jedinci, kteří se s ním nikdy nesetkali, zároveň ale také bylo pozorováno, že jedinci, kteří se s kadmiem již setkali, naakumulovali menší množství tohoto prvku, než jedinci vystavení kadmiu poprvé (Cain et al. 2006).

Studie sladkovodních plžů jako je ampulárka nilská (*Lanistes carinatus*) a mořských plžů, jako je *Nerita* sp., odhalila schopnost, jakou se plži brání těžkým kovům, jakými, jsou Cu a Cd. Prvním důležitým zjištěním bylo, že toxicita těžkých kovů je vztažena k tomu, zda jsou jen uloženy ve tkáních jako granula, nebo jsou metabolicky aktivní a u plžů se pak projevují buněčnou nekrózou, nebo přítomností vakuol v trávicích buňkách (AbdAllah 2014). Druhým zjištěním je způsob, jakým se vodní měkkýši těžkých kovů zbavují. Měkkýši totiž úspěšně detoxikují přijaté kovy vazbou na speciální aminokyselinu zvanou metallothionin, nebo kovy váží na jiné sloučeniny, jako uhličitany olovnaté (AbdAllah and Moustafa 2002).

Podobně jako u ryb, byla i u vodních bezobratlých zkoumána možnost negativní korelace mezi příjmem vápníku a dalších prvků. Konkrétně byla sledována korelace mezi akumulací vápníkem a akumulací kadmia a zinku. Ačkoliv mají kadmium a zinek stejnou dráhu příjmu jako vápník, nebyla pozorována žádná korelace mezi těmito prvky (Poteat and Buchwalter 2014).

Terestrickým bezobratlým se doposud věnovalo z hlediska akumulace těžkých kovů spíše méně studií. Bylo například zjištěno, že u mravenců *Crematogaster scutellaris* z lokality s vyšší koncentrací vybraných prvků, dochází k akumulaci vyšších hladin Zn, Sr a Fe do tkání dělníků než u dělníků z referenční lokality, přičemž zinek se ukládá do stěny střeva, do Malpighiho trubic pak zinek a stroncium, do tuku se ukládá železo (Gramigni et al. 2011). Také studie mravenců (*Formica aquilonia*) potvrzuje, že mravenci z lokality znečištěné blízkou slévárnou naakumulovali vyšší hladiny As, Ni, Cu, a Pb. Hodnoty byly někdy až překvapivě rozdílné. V porovnání s mravenci na referenční lokalitě, byla ve tkáních dělníků ze znečištěné lokality naměřena tisíckrát vyšší hladina Pb, čtrnáctkrát vyšší hladina Cu

a devětkrát vyšší hladina As (Eeva et al. 2004). Studie různých druhů mravenců specifikovala místa akumulace těžkých kovů, kdy nejvyšší hladiny byly naměřeny v meseteronu, dále pak v Malpighiho trubicích a metenteronu (Rabitsch 1997). Zdá se, že těžké kovy se do těl mravenců dostávají složitější cestou. Z rostliny do parazitů nebo herbivorů a z nich pak do těl mravenců (Gramigni et al. 2013). Studie vlivu zinečnatých iontů na octomilky (*Drosophila melanogaster*) odhalila, že zinečnaté ionty ve vysokých koncentracích v cytoplasmě hemocytů indukuje PCD (programmed cell death) (Filipiak et al. 2012). Podobně jako se u vodních bezobratlých vyskytuje akumulace prvků z vody, tak i u suchozemských byla potvrzena akumulace prvku z půdy. Přímá akumulace manganu z půdy do tkání byla pozorována u terestrických plžů, jako je hlemýžď kropenatý (*Cornu aspersum*), u kterého výrazně kleslo množství přeživších mladých jedinců ve chvíli, kdy koncentrace manganu v hepatopankreatu přesáhla 300 mg/kg suché váhy (Bordean et al. 2014). Dalším prvkem je stříbro, které ve formě nanočástic proniká do tkání bezobratlých a je pro ně toxické, což bylo testováno a potvrzeno například u žížaly hnojní (*Eisenia fetida*; Gomes et al. 2015) nebo chvostoskoka *Folsomia candida* (Mendes et al. 2015). Za nejzajímavější lze pravděpodobně pokládat studii pavouků z odkališť, dle níž bylo zjištěno, že hladiny olova, mědi a zinku byly vyšší u síťových než u zemních druhů, zatímco železo a mangan akumulovaly druhy bez rozdílu. Dalším zjištěním byl rozdíl mezi akumulací u samců a samic, kdy byly koncentrace kadmia, niklu a olova vyšší u samců než u samic (Wilczek et al. 2005). Nejblíže této práci se zdá být studie zednice rezavé (*Osmia rufa*) z lokalit znečištěných blízkými hutěmi na zinek a olovo v Polsku a Velké Británii. Byl pozorován negativní vliv Cd, Pb, a Zn na reprodukci a míru přežití. Na jednu samici ze znečištěné lokality připadaly tři až čtyři plodové buňky a úmrtnost potomstva se pohybovala mezi padesáti až šedesáti procenty. Na referenčních lokalitách na jednu samici připadalo osm až deset plodových buněk a úmrtnost potomstva se pohybovala mezi deseti a třiceti procenty. Zároveň byl pozorován negativní vliv Cd, Pb a Zn na velikost jedinců ze znečištěných lokalit (Moroń et al. 2014).

Mnoho studií vlivu těžkých kovů na organismy žijících na odkalištích se zabývá obratlovci. Ve vodě, která slouží pro transport popílku na odkaliště žijí mnohdy **ryby**. Zdá se, že oproti plazům mají ryby s prvky obsaženými v popílku větší potíže. Pakaprovec jezerní (*Erimyzon sucetta*) byl podroben laboratornímu experimentu

s použitím substrátu z odkaliště. Vyšší koncentrace selenu, stroncia a vanadu v těle se projevovaly menším vzrůstem jedince a ztrátou šupin (Hopkins et al. 2000). Jiný laboratorní experiment byl zaměřen na rychlost pohybu pakaprovců. Ukázalo se, že jedinci vystavení kontaminovanému substrátu dosahovali nižší maximální rychlosti pohybu (Snodgrass et al. 2003).

Stejně jako u dalších skupin obratlovců se i u ryb vyskytují druhy, kterým popílek nevádí. U gambusie Holbrookovy (*Gambusia holbrooki*) byl při laboratorním experimentu zkoumán vliv rtuti. Rtutí byla narušena žaberní tkáň jedinců, ale z dlouhodobého hlediska neměly ryby respirační potíže a je tedy pravděpodobné, že jsou vůči vlivům rtuti resistantní (Hopkins et al. 2003). Jiná studie z odkaliště potvrzuje odolnost gambusií vůči negativním vlivům toxinů obsažených v popílku. Ukázalo se, že velikost a počet mláďat se u ryb z popílkoviště a srovnávací skupiny výrazně neliší i když se do mláďat přenáší selen (Staub et al. 2004).

U ryb byl zaznamenán jev, který by mohl mít význam pro přežití na odkališti. Bylo zjištěno, že u ryb dochází k intoxikaci žáber hliníkem, který způsobuje dýchací problémy, ale pouze v případě, že ve vodě není dostatek vápníku, který vytlačuje hlinité ionty (Gensemer and Playle 1999).

Obojživelníci jsou jednou z nejčastěji studovaných skupin obratlovců na odkalištích. Například ropucha hrabavá (*Anaxyrus terrestris*) je příkladem toho, jak těžké kovy negativně působí na jedince. Bylo zjištěno, že u jedinců držených na popílkem znečištěné bažině v blízkosti odkaliště elektrárny u města Aiken v Jižní Karolině se procentuální úspěšnost přežití rané fáze larválního stádia snížila o šestnáct procent a celková mortalita byla stoprocentní, to vše pravděpodobně vlivem arzenu, kadmia, chromu, mědi, selenu a dalších prvků (Rowe et al. 2001). U samic ropuchy hrabavé z téhož odkaliště byly zjištěny zvýšené hladiny niklu, selenu a stroncia. Ve vejcích pak byla ukládána měď, olovo a stroncium. Doprovodným jevem přitom bylo zmenšení snůšky o dvacet sedm procent (Metts et al. 2013). Zdá se, že tento jev není u obojživelníků neobvyklý, neboť u samic ropuchy americké (*Anaxyrus americanus*) bylo pozorováno, že rtuť přenesená ze samic do vajec negativně ovlivňuje růst, úspěch metamorfózy a přežití potomstva (Todd et al. 2011). Jiná laboratorní studie ropuchy americké poukazuje na přenos selenu a rtuti ze samice do vajec (Bergeron et al. 2010). U ropuchy pruhované (*Limnodynastes peronii*) byla pozorována akumulace selenu, kobaltu a arzenu,

příčemž tyto prvky jsou považovány za příčinu opožděné metamorfózy (Lanctôt et al. 2016). U larev skokana volského (*Lithobates catesbeianus*) byly na popílkovišti pozorovány výrazné deformace v podobě laterálního zahnutí ocasu blízko jeho kořene a zároveň naměřena vysoká hladina arzenu, kadmia, selenu, mědi, chromu a vanadu (Hopkins et al. 2000). U larev skokana východoamerického (*Lithobates sphenoccephalus*) byl laboratorní experimentem odhalen vliv rtuti na délku metamorfózy, zejména se prodloužila doba ztráty ocasu (Unrine et al. 2004). Při jiném laboratorním experimentu se ukázalo, že vanad získaný potravou nemá vliv na růst, ale jedinci krmení kontaminovanou potravou častěji umírali při metamorfóze (Rowe et al. 2009).

Na druhou stranu jsou mezi obojživelníky také druhy, kterým těžké kovy v substrátu odkališť nevadí. Příkladem takového druhu může být skokan lesní (*Lithobates sylvaticus*) u něhož nebyl při vystavení rtuti v laboratorních podmínkách pozorován žádný vliv tohoto prvku (Wada et al. 2011). Pravděpodobně nejodolnějším testovaným druhem, co se tolerance rtuti týče, je mločik dvoupásý (*Eurycea bislineata*), u něhož byla naměřena sedmkrát vyšší koncentrace rtuti než u ostatních dosud dokumentovaných obojživelníků (7,507 a 7,377 ng/g), u nichž tyto a nižší koncentrace rtuti negativně ovlivňovaly rychlost pohybu jedince a tím i jeho schopnosti lovit (Burke et al. 2010).

Z existence více či méně rezistentních druhů logicky vyplývá, že existují mechanismy, kterými se druhy brání toxinům akumulovaným z prostředí, nebo potravy. Možným detoxikačním mechanismem by mohl být jev pozorovaný u výše zmíněného skokana volského. Larvy tohoto skokana se totiž při metamorfóze částečně zbavily naakumulovaných prvků (Snodgrass et al. 2003).

Vliv těžkých kovů byl studován i u **plazů**. Jedním ze studovaných druhů je užovka mokasínová (*Nerodia sipedon*), u které byl zaznamenán vliv rtuti na mladé jedince, kteří po kontaminaci vykazovali nižší ochotu útočit na kořist a byli méně úspěšní při lovu (Chin et al. 2013b). U užovky páskované (*Nerodia fasciata*) bylo zjištěno na odkališti elektrárny u města Aiken v Jižní Karolině, že kořist užovek, tedy pulci, žáby a ryby, obsahuje arzen a selen. V hadech pak byly naměřeny zvýšené hladiny obou prvků, čímž by mohl být vysvětlen původ arzenu a selenu v užovkách. Průzkum byl proveden na 8 jedincích z odkaliště a 17 ze srovnávací lokality (Hopkins et al. 1999).

Další laboratorní studie užovky páskované odhalila místa, kam se naakumulované prvky ukládají. Arzen, kadmium, selen, stroncium a vanad se ukládají v ledvinách, játrech a/nebo v gonádách (Hopkins et al. 2001).

Stejně jako u obojživelníků byl i u plazů pozorován přenos prvků ze samice do vajec, jako například přenos rtuti u užovky mokasínové (Chin et al. 2013a), nebo selenu u užovky domácí (*Boaedon fuliginosus*; Hopkins et al. 2004) a aligátora amerického (*Alligator mississippiensis*; Roe et al. 2004).

Zdá se, že kromě výše zmíněné užovky mokasínové, nepůsobí těžké kovy plazům žádné zaznamenané problémy. Nebyl pozorován vliv selenu z potravy (až 20 µg/g) na životní funkce ani reprodukční aktivitu samic užovky domácí (Hopkins et al. 2004) ani nebyl pozorován vliv arzenu, kadmia, chromu, selenu, stroncia a vanadu na užovku páskovanou, která při laboratorním experimentu dokonce ani neakumulovala měď (Hopkins et al. 2002).

Odkaliště mimo ryb, obojživelníků a plazů hostí také další obratlovce, kterými jsou **ptáci**. Vliv těžkých kovů na ptáky byl zdokumentován v několika studiích. Studie kadáverů vlhvců (*Quiscalus quiscula*) z okolí Savah River v Jižní Karolině (USA) odhalila přítomnost As, Cd a Se v peří a játrech dospělých ptáků, u mláďat jen v peří (Bryan et al. 2012). Této studii předcházela jiná, zabývající se u vlhvců přenosem Se z matky na potomstvo. Ukázalo se, že Se se skutečně přenáší z matky do vajec, přičemž zajímavá je vyšší koncentrace Se ve druhém vejci ve snůšce. Zároveň se ale naměřená koncentrace ve vejcích neukázala jako toxická (Bryan et al. 2003). U ptáků je také zkoumána akumulace Hg. Ukazuje se, že u ptáků dochází k akumulaci Hg, ale předpokládá se, že se ptáci rtuti dovedou zbavovat, neboť ji ukládají do keratinizovaných tkání (Wada et al. 2009). Tento jev potvrzuje i studie orlovců říčních (*Pandion haliaethus*) odchycených na různých místech Jižní Karolíny (USA), kdy byla rtuť nalezena v peří mláďat. Na druhou stranu stejná studie odhalila, že u starých ptáků je mnohem více rtuti v játrech. Dále tato studie naznačuje, že přítomnost Hg v keratinizovaných tkáních by mohla značit dřívější kontakt s tímto prvkem (Hopkins et al. 2007).

Za zmínku stojí i **savci**. Konkrétně na netopýrech hnědých (*Eptesicus fuscus*) byl proveden rozsáhlý výzkum, zkoumající jedince ze rtutí znečištěných lokalit z USA, Mexika a části Kanady, při kterém byla naměřena až 2,6 krát vyšší koncentrace Hg v tělech samic z kontaminovaných lokalit, než u samic z referenčních lokalit. Rtuti

v srsti přitom bylo naměřeno 260 krát větší množství než v krvi a proto se tak srst jeví jako významné úložiště Hg (Wada et al. 2010).

Hypotézy

- Blanokřídlý hmyz z odkališť akumuluje do svých tkání vyšší hladiny než blanokřídlý hmyz z písčin.
- Množství naakumulovaných prvků je odlišné v různých trofických úrovních.

3. Materiál a metody

Pro účely této práce bylo vybráno sedmnáct prvků (Ag, Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, Se, Sr, V a Zn). Prvky byly vybrány podle očekávatelnosti v substrátu odkališť, předpokládaných negativních vlivů dle dostupných studií a podle měřitelnosti koncentrace prvků ve vzorcích vzhledem ke zvoleným níže uvedeným metodám měření.

3.1. Lokality

Čtyři vybrané lokality, dvě písčiny a dvě odkaliště, kde probíhal sběr materiálu, se nacházejí v oblasti Polabí, blízko města Pardubice. Tato oblast se nachází na severu České republiky. V Polabí je mírně teplé podnebí s průměrnými teplotami 8-9 °C a ročním srážkovým úhrnem 550-700 mm (Tropek et al. 2013 podle Quitt 1971). V Polabí byl v historii běžný biotop kontinentálních vátných písků. Bohužel tento biotop v dnešní době téměř vymizel v důsledku zalesňování a/nebo vlivem sukcese (Tropek et al. 2013).

Písčina Vesecký kopec se nachází severozápadně od vesnice Veská (N 50° 2' 33", E 15° 51' 19", 238 m n.m.). Vesecký kopec je morfologický útvar tvořený navátými mladopleistocenními písky z Labské říční terasy. Písečný přesyp je pozůstatkem duny, která zde vznikla v aridním prostředí během čtvrtohor. Od konce šedesátých let 20. století do roku 2004 tu probíhala těžba písku, do té doby byla tato duna považována za největší v Čechách. Po ukončení těžby byla na Veseckém kopci zahájena rekultivace překrytím skřývkou a následným vysázením borovic a dubů. Díky iniciativě místních entomologů byla tato rekultivace zastavena a v roce 2004

byl písčinný přesyp vyhlášen přechodně chráněnou plochou. Dnes jsou rozměry nezalesněné plochy asi 120 x 60 m. Tato plocha a na ní vázaná flóra a fauna je předmětem ochrany. V rámci zachování obnažené části území se provádí pravidelné narušování půdního substrátu a odstraňování náletových rostlin, dále se odstraňují konkurenčně silné rostliny v okolí přírodní památky (Prausová et al. 2007).

Druhá písčina leží severně od obce Semín (N 50° 03' 34.4", E 15° 31' 07.2", 222 m n. m.). Jedná se o lokalitu tvořenou vátými písky z období mladopleistocénu až holocénu. Průměrná velikost zrn je 0,5 mm (web1). Na této lokalitě je patrné cílené zalesňování borovicí.

První odkaliště patří k teplárně Synthesia u obce Semtín. Odkaliště se nachází západně od obce Rosice (N 50° 02' 36.0", E 15° 42' 59.1", 217 m n. m.). Jedná se o systém malých otevřených ploch lemovaných rákosem, s nepravidelnou disturbancí, kolem velké vodní plochy uprostřed. V závislosti na době uplynulé od poslední disturbance, v podobě hydrického ukládání popílku a strusky, tvoří jednotlivé dílčí plochy škálu od nejranější sukcese až po pokročilejší, kdy už mech začíná substrát stabilizovat. Této škále odpovídalo i množství blanokřídlých ulovených na ploškách, kdy byla úspěšnost pastí nejvyšší na ploškách s nedávnou disturbancí, ale zároveň již nepodmáčeným substrátem. Celková plocha odkaliště, povětšinou zarostlá rákosem a místy i stromy činí 29,3 ha. Dílčí plošky pak hrubým měřením přibližně 1500 – 1800 m².

Druhé odkaliště patří k elektrárně Bukovina a leží jižně od obce Bukovina nad Labem (N 50° 06' 56.8", E 15° 49' 46.3", 250 m n. m.). Jedná se o rozsáhlou otevřenou plochu s oblastmi rané fáze sukcese. Od roku 1960 zde byl hydrickou cestou ukládán popílek z elektrárny Opatovice nad Labem sedimentací, poté, na začátku druhého tisíciletí, se díky zavedení odsíření změnila technologie ukládání popílku a sedimentační proces byl proto ukončen. S tím souvisí i další krok, při kterém byly hlavní části odkalovací nádrže vyčerpány a odkrytý popílek byl ponechán spontánní sukcesi (Tropek et al. 2013). Lokality jsou zemědělsky nebo lesnický rekultivovány překrytím popílku orníci (Tropek et al. 2012). I přesto k roku 2009 tvořila odkrytá plocha popílku zhruba 10 ha (Tropek et al. 2013).

3.2. Sběr materiálu

Žahadloví blanokřídlí byli sbíráni po čtyři dny mezi 1. červnem a 19. červencem, vždy za teplého a slunečného počasí. Při každém výjezdu dva až čtyři lidé aktivně

(odchyt entomologickými sítěmi) i pasivně (žluté misky: průměr 15 cm, hloubka 5 cm, naplněné vodou s trochou detergentu) odchytávali žahadlové blanokřídlé na vhodných stanovištích. Nabíraný materiál byl uložen v 96% ethanolu. Ke sběru byly vybrány slunečné dny s maximálními teplotami okolo 28-33 °C. Na každou ze čtyř lokalit připadá celkem 10 hodin aktivního sběru, přičemž sběr prováděli dva až čtyři lidé. Sběr probíhal 3 hodiny dopoledne a 2 hodiny odpoledne. Misky byly na lokalitě rozmístěny vždy ráno před začátkem aktivity hmyzu a sebrány po 16. hodině téhož dne, kdy aktivita hmyzu klesla.

Na všech lokalitách bylo odebráno také 10 vzorků substrátu z vrchních 20 cm, přičemž kvůli podchycení variability jednotlivých lokalit byl substrát sbírán z míst s různými odstíny.

3.3. Zpracování vzorků

Vzorky **substrátu** byly nejdříve sušeny 72 hodin při 70 °C. Poté byly pomocí síta ze vzorků odstraněny příliš velké složky a vzorky byly rozemlety na analytickou jemnost ($< 63 \mu\text{m}$) v achátových miskách pomocí planetového mlýnku. Následné analýzy byl provedeny pracovníky laboratoře Prof. RNDr. Martina Mihaljeviče CSc. (Ústav geochemie, mineralogie a nerostných zdrojů), 0,2 g každého vzorku bylo rozpuštěno na Petriho misce v 10 ml koncentrované HF a 5 ml koncentrované HClO_4 a následně odpařeno do sucha. Proces byl zopakován s 5 ml HF a 0,5 ml HClO_4 . Vzorky byly poté rozpuštěny ve 2% roztoku HNO_3 a přeneseny do 100ml odměrné baňky. Ve vzniklých roztocích byly změřeny koncentrace prvků pomocí hmotnostní spektrometrie.

Analýza byla provedena na hmotnostním spektrometru s indukčně vázanou plazmou (ICPMS) typu X Series II firmy Thermo Scientific (Německo). Nastavený výkon radiofrekvenčního generátoru byl 1 400 W, odražená energie pak byla < 1 . Průtok chladicího plynu byl nastaven na 14 L/min, průtok plynu zamlžovačem byl 0,78 L/min, průtok plazmového plynu pak byl 1,3 L/min. Byl použit Meinhardův zamlžovač. Režim snímání byl nastaven na Peak jump, počet bodů na pík byl 3. Doba záznamu signálu byla 10 ms, doba ustálení kvadrupólu 10 ms. Opakovalo se třikrát, počet skenů na opakování byl 80. Dále byl použit duální mód detektoru. Kvalita analytického procesu byla verifikována pomocí referenčních materiálů SRM2711 (NIST, USA, Montana Soil) a SRM2709 (NIST, USA, San Joaquin Soil).

Zvířata byla při přípravě pro determinaci opláchnuta vodou, aby byla zbavena nečistot zachycených na povrchu a poté byla uložena do čistého etanolu. Materiál byl determinován Dr. Jakubem Strakou. Při testování metodiky se ukázalo, že limitní hmotnost vzorku pro analýzu činí před vysušením a rozemletím 0,8g. Po determinaci zvířat proto byly v rámci jednoho druhu a sběru vytvořeny za pomoci analytických vah skupiny tak, aby jejich hmotnost před vysušením a rozemletím činila alespoň zmíněných 0,8 g, čímž vznikly skupiny po 2 až třiceti kusech,.

Následně byli jedinci sušeni 72 hodin při teplotě 70 °C. Po vysušení byla zvířata ve skupinách znova zvážena. Následně byla rozemleta pomocí rotorového mlýnku na 0,12 mm. Takto bylo získáno 95 vzorků, které byly analyzovány Mgr. Stanislavou Matějkovou (Analytická laboratoř, Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v.v.i.) emisní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem elektronickou valorizací.

K analýze byl použit plně simultánní ICP-OES spektrometr SpectroArcos (SpectroAnalytical Instruments, Německo) s radiálním pohledem do plazmatu, který byl nastaven na výkon 1 600 W. Průtok chladicího plynu byl 15 L/min, plazmový plyn protékal rychlostí 1,2 L/min. Snímání signálu proběhlo v transientním modu. Rychlost vzorkování byla 10 Hz, integrační interval byl 100 ms/1 integrace. Jako zařízení pro elektrotermickou valorizaci bylo použito ETV-4000c s autosamplrem AD 50. Nosným plynem byl argon s průtokem 0,140L/min, by-pass plyn měl průtok 0,380 L/min, jako reakční plyn byl použit R12 s průtokem 2 ml/min. Teplotní program byl nastaven takto: 0 – 300°C/10 s, 300 – 600°C/50 s, 550 – 2000°C/35 s, 2000 – 2500°C/20 s, 2500°C/3 s, chlazení, celková délka programu pak byla 120 s.

3.4. Statistické analýzy

Rozdíl v koncentracích jednotlivých studovaných prvků v popílku a písku byl testován párovým t-testem s Bonferroniho korekcemi v prostředí R (R Core Team 2015).

Heterogenita mezi vzorky substrátů byla analyzována pomocí metody hlavních komponent (PCA (Hotelling 1933) v prostředí R (R Core Team 2015)

Vliv typu substrátu na koncentraci vybraných prvků ve tkáni blanokřídých byl v prostředí R za použití fylogenetické korekce analyzován metodou Generalized

Estimating Equations (GEE (Liang and Zeger 1986)) a pro srovnání bez fylogenetické korekce metodou GLM (McCullagh and Nelder 1998).

Vliv typu substrátu a potravní strategie na koncentraci vybraných prvků ve tkáni blanokřídlých za použití fylogenetické korekce byl taktéž analyzován metodou GEE v prostředí R.

V analýzách s použitím fylogenetické korekce byly zohledněny fylogenetické vztahy mezi jednotlivými druhy. Tyto korekce byly použity kvůli rozdílným druhům z popílku, které mohou mít různé preadaptace. Kladogram, z něhož byla vytvořena distanční matice, byl vytvořen z kladogramu sestaveného Gabrielou Wofkovou (2016) na základě prací Bogusch et al. (2007) a Hedke et al. (2013). Kladogram byl rekonstruován pouze s druhy které byly analyzovány v této práci. K zobrazení a kontrole byl použit program FigTree (<http://www.tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>, 2016).

Fylogenetické distance byly definovány jako počty nodů mezi jednotlivými taxony, v prostředí R pak byla pro odstranění zbytečných nodů použita funkce „collapse.singles“ z balíčku APE (Paradis et al. 2004).

Koncentrace prvků v substrátu podle typu substrátu

Rozdíl v koncentracích jednotlivých studovaných prvků v popílku a písku byl testován párovým t-testem s Bonferroniho korekcemi.

Koncentrace prvků v substrátu podle jednotlivých lokalit

Pro stanovení heterogenity substrátů jednotlivých lokalit byla provedena analýza hlavních komponent (PCA) v prostředí R s pomocí balíčku vegan (Oksanen et al. 2016). Vysvětlovanou proměnnou byla příslušnost vzorku k lokalitě a vysvětlující proměnnou naměřené koncentrace v jednotlivých vzorcích. Nejprve byly chybějící hodnoty v naměřených koncentracích nahrazeny průměrnou koncentrací prvku na lokalitě. Poté byla data standardizována pomocí funkce „decostand“ a následná analýza hlavních komponent byla provedena pomocí funkce „rda“.

Koncentrace prvků ve tkáních hmyzu podle typu substrátu

Pro otestování vlivu substrátu na koncentraci vybraných prvků ve tkáních byly naměřené koncentrace prvků ve tkáních analyzovány v Gamma rozložení. Pomocí funkce „`compar.gee`“ z balíčku APE (Paradis et al. 2004) byl sestaven model s funkcí „`log`“ . Byly vytvořeny základní modely pro každý prvek, jejichž vysvětlovanou proměnnou byl typ substrátu a vysvětlující proměnnou byly naměřené koncentrace jednotlivých prvků. Do modelu byla také začleněna fylogenetická korekce za použití balíčku phytools (Revell 2016). Nakonec byla použita Bonferroniho korekce.

Naměřené koncentrace byly také analyzovány v binomickém rozložení pomocí funkce „`glm`“. Byly vytvořeny základní modely pro každý prvek jejichž vysvětlovanou proměnnou byl typ substrátu a vysvětlující proměnnou byly naměřené koncentrace jednotlivých prvků. Do modelu ale nebyla začleněna fylogenetická korekce, což bylo důvodem provedení této analýzy. Vytvořené modely byly dále analyzovány analýzou variance (ANOVA) a testovány pomocí Chi-kvadrát testu. Nakonec byla použita Bonferroniho korekce.

Koncentrace prvků ve tkáních hmyzu podle typu substrátu a potravní strategie

Naměřené koncentrace prvků ve tkáních byly analyzovány v Gamma rozložení. Pomocí funkce „`compar.gee`“ z balíčku APE (Paradis et al. 2004) byl sestaven model s funkcí „`log`“ . Byly vytvořeny základní modely pro každý prvek, jejichž vysvětlovanou proměnnou byl typ substrátu v kombinaci s potravní strategií a vysvětlující proměnnou byly naměřené koncentrace jednotlivých prvků. Do modelu byla také začleněna fylogenetická korekce za použití balíčku phytools (Revell 2016). Nakonec byla použita Bonferroniho korekce.

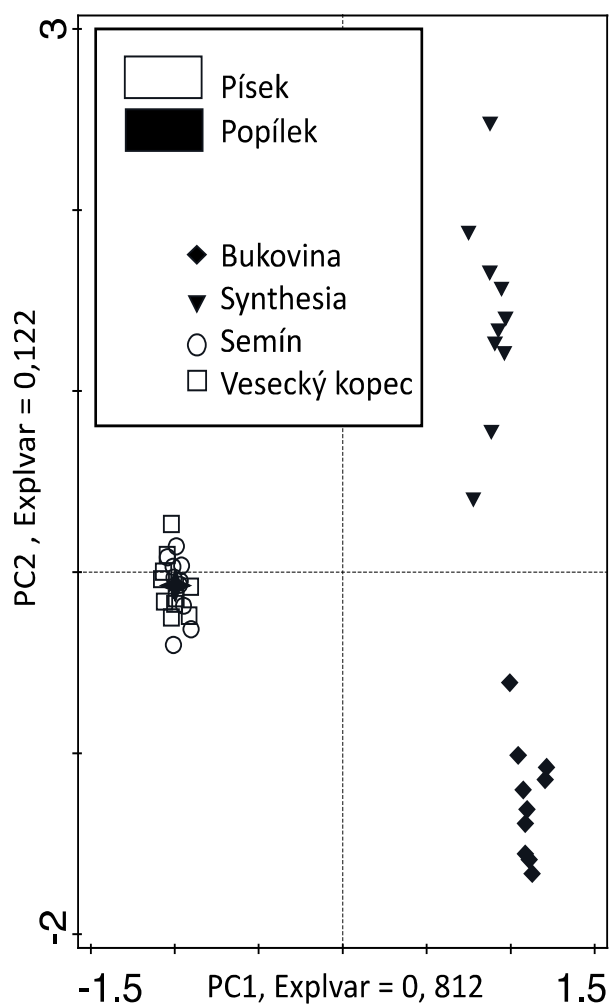
4. Výsledky

Celkově se podařilo kombinací aktivního a pasivního sběru sesbírat na dvou písčínách a dvou odkalištích v oblasti Polabí 55 druhů žahadlových blanokřídlých v dostatečném množství pro vznik 95 vzorků. Ve vzorcích byla následně změřena koncentrace vybraných prvků. Ze zmíněných 95 vzorků, které dohromady tvořilo 896 jedinců, pocházelo 52 vzorků z odkališť a 43 vzorků z písčin.

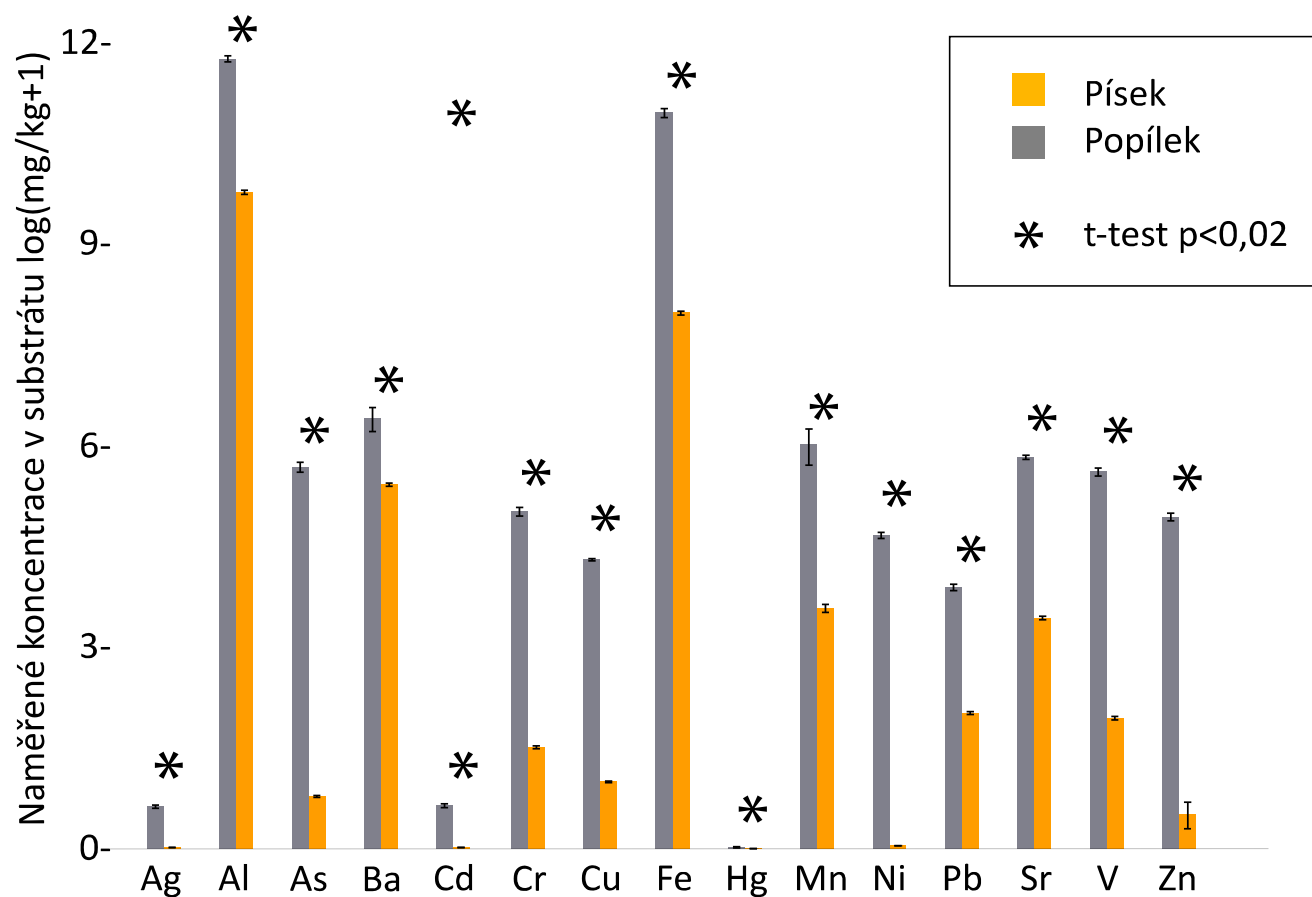
4.1. Koncentrace prvků v substrátu popílkovišť a písčin

Koncentrace všech sedmnácti prvků byly průkazně vyšší v substrátu odkaliště než v substrátu písčin což je patrné z výsledného grafu, který zobrazuje logaritmicky transformované naměřené koncentrace jednotlivých prvků v obou typech substrátu (Obrázek 2). Dále se ukázalo, že substrát písčin je poměrně homogenní, zatímco vzorky popílku se od sebe liší jak v rámci každé lokality, tak v rámci typu substrátu (Obrázek 1).

Obrázek 1: Znázornění heterogenity lokalit za použití analýzy hlavních komponent (viz kapitola 3.4.). Jednotlivé značky znázorňují vzorky z příslušných lokalit. Rozložení vzorků znázorňuje heterogenitu mezi typy substrátu, oběma odkališti a heterogenitu substrátu v rámci každého odkaliště.



Obrázek 2: Porovnání průměrných hodnot naměřených koncentrací v substrátech testovaných pomocí t-testu s Bonferroniho korekcí (viz. kapitola 3.4) . Jednotlivé sloupce zobrazují logaritmicky transformované naměřené koncentrace jednotlivých prvků v obou typech substrátu s vyznačením směrodatné odchylky. Hladina průkaznosti byla v tomto případě 0,02.



4.1. Koncentrace prvků ve tkáních žahadlových blanokřídých

Z celkového počtu sedmnácti vybraných prvků, se u jedenácti podařil prokázat za použití fylogenetické korekce vliv substrátu na míru akumulace vybraných prvků do tkání žahadlových blanokřídých, konkrétně: Al, As, Cd, Co, Fe, Mn, Se, Sr, V a Zn. Tento výsledek je patrný z Tabulky 2, která obsahuje výsledky analýzy metodou GEE a je znázorněn Obrázku 3, který zobrazuje logaritmicky transformované naměřené koncentrace jednotlivých prvků ve tkáních žahadlových blanokřídých z obou typů substrátu.

Na druhou stranu bez použití fylogenetické korekce, se jako signifikantní jeví vyšší množství Al, As, Cd, Fe, Se, Sr a V ve tkáních žahadlových blanokřídých z odkališť. Tento výsledek je patrný z Tabulky 3, která obsahuje výsledky analýzy modelů vytvořených metodou GLM za použití analýzy variance s Bonferroniho korekcí.

4.1. Koncentrace prvků ve tkáních žahadlových blanokřídých

Pouze u šesti vybraných prvků z sedmnácti se podařil prokázat vliv substrátu v kombinaci s potravní strategií zvířat. V případě herbivorních blanokřídých z odkališť se ukázalo, že jedinci akumulují větší množství Cr, Fe, a Mn na odkališti, zatímco hladina Cu a Zn je u herbivorů vyšší na písčínách. Obdobně nesourodé výsledky se ukázaly i u parazitoidů, kdy tkáně jedinců z odkališť obsahovaly méně Cr, Mn, a Zn, než tkáně jedinců z písčín, zatímco hladiny Fe byly vyšší ve tkáních jedinců z odkališť. Dále se ukázalo, že v případě Cu se hladiny vybraných prvků obsažených ve tkáních parazitoidů z odkališť neliší od hladiny vybraných prvků ve tkáních parazitoidů z písčín. Tyto výsledky jsou uvedeny v Tabulce 4 a znázorněny na Obrázku 4, který zobrazuje logaritmicky transformované naměřené koncentrace jednotlivých prvků ve tkáních herbivorů a parazitoidů z odkališť a písčín.

Tabulka 2: Výsledky analýz metodou GEE s použitím Bonferroniho korekce pro analýzu vlivu substrátu na koncentraci vybraných prvků ve tkáních žahadlových blanokřídých (viz kapitola 3.4.)

| | Ag | | Al | | As | | Ba | | Cd | | Co | |
|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | Intercept | Odkaliště | Intercept | Odkaliště | Intercept | Odkaliště | Intercept | Odkaliště | Intercept | Odkaliště | Intercept | Odkaliště |
| Estimate | -2.9721 | -0.1203 | 4.4108 | 0.5063 | 4.4108 | 1.5627 | 1.7151 | -0.3579 | -2.3579 | 0.8946 | -1.9777 | 0.2009 |
| SE | 0.3345 | 0.08158 | 0.1728 | 0.0421 | 0.4684 | 0.1142 | 0.6741 | 0.1644 | 0.3213 | 0.0784 | 0.1875 | 0.0457 |
| t | -8.8859 | -1.4745 | 25.5241 | 12.0119 | -3.1154 | 13.6793 | 2.5443 | -2.1769 | -7.3387 | 11.4161 | -10.5492 | 4.3943 |
| P | 1 | | <0,0001 | | <0,0001 | | 0.7332 | | <0,0001 | | 0.0043 | |

| | Cr | | Cu | | Fe | | Hg | | Mn | | Ni | |
|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | Intercept | Odkaliště | Intercept | Odkaliště | Intercept | Odkaliště | Intercept | Odkaliště | Intercept | Odkaliště | Intercept | Odkaliště |
| Estimate | 1.1099 | 0.4928 | 3.1588 | -0.0291 | 4.8086 | 0.2180 | -2.9736 | -0.1247 | 3.2063 | 0.1816 | -0.3500 | 0.6988 |
| SE | 0.6585 | 0.1606 | 0.0700 | 0.0171 | 0.1567 | 0.0382 | 0.3199 | 0.0780 | 0.2614 | 0.0638 | 2.7026 | 0.6592 |
| t | 1.685 | 3.0681 | 45.1230 | -1.7036 | 30.6812 | 5.7030 | -9.2944 | -1.5986 | 12.2647 | 2.8485 | -0.1295 | 1.0601 |
| P | 0.1029 | | 1 | | 0.0002 | | 1 | | 0.1703 | | 1 | |

| | Pb | | Se | | Sr | | V | | Zn | |
|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | Intercept | Odkaliště | Intercept | Odkaliště | Intercept | Odkaliště | Intercept | Odkaliště | Intercept | Odkaliště |
| Estimate | -0.4157 | -0.0327 | -0.5276 | 1.5766 | 0.4639 | 0.5198 | -3.2324 | 1.6324 | 5.0604 | 0.9737 |
| SE | 0.3264 | 0.0796 | 0.3627 | 0.0885 | 0.1627 | 0.0397 | 0.5952 | 0.1452 | 0.8585 | 0.2094 |
| t | -1.2735 | -0.4105 | -1.4546 | 17.8212 | 2.8510 | 13.0971 | -5.4306 | 11.2442 | 5.8947 | 4.6505 |
| P | 1 | | <0,0001 | | <0,0001 | | <0,0001 | | 0.0023 | |

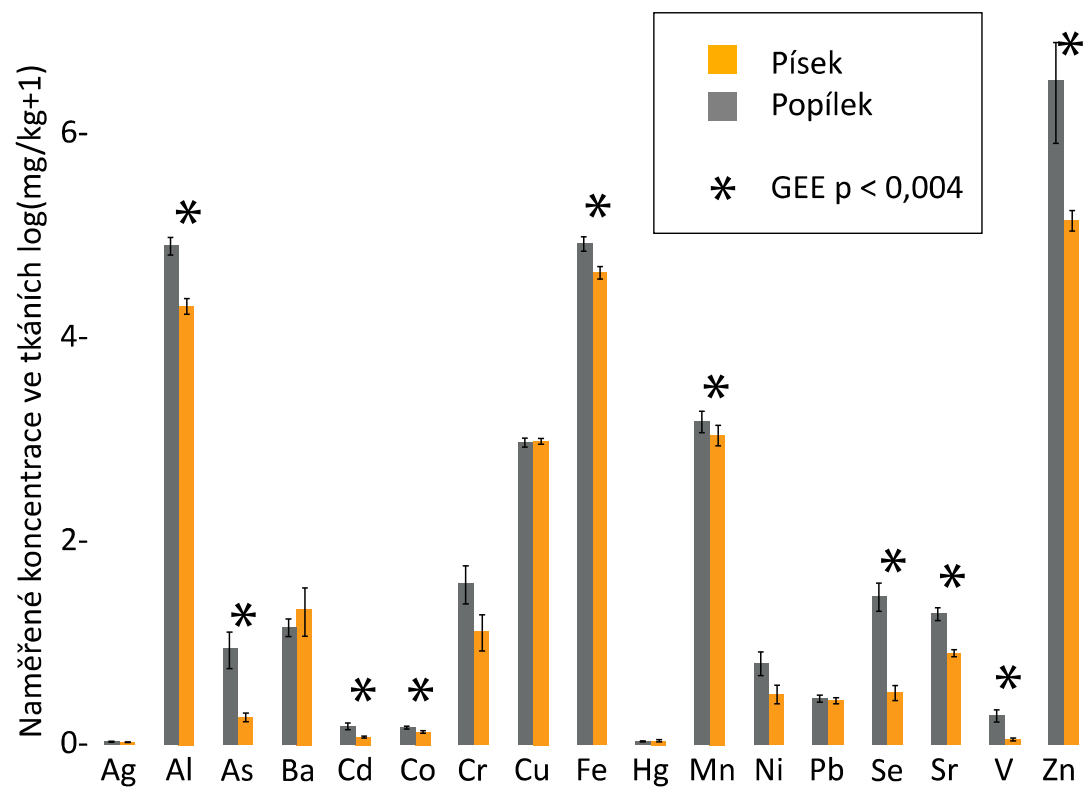
Legenda: Estimate = odhad regresních koeficientů modelu; SE = střední chyba průměru, určující odlišnost průmětu hodnot náhodně získaného vzorku a průměru hodnot základního souboru; t = hodnota t-testu porovnávaných koncentrací; P= hladina významnosti po Bonferroniho korekci.

Tabulka 3: Výsledky analýz variance finálních modelů vytvořených metodou GLM bez použití fylogenetické korekce pro zjištění vlivu substrátu na koncentraci vybraných prvků ve tkáních blanokřídлых (viz kapitola 3.4.)

| | | Df | D.R. | Chi | P |
|----|------|----|--------|---------|---------|
| Ag | Null | 90 | 125.26 | | |
| | Ag | 89 | 120.68 | 0.0324 | 0.5508 |
| Al | Null | 90 | 125.26 | | |
| | Al | 89 | 104.97 | >0.0001 | >0.0001 |
| As | Null | 90 | 125.26 | | |
| | As | 89 | 78.557 | >0.0001 | >0.0001 |
| Ba | Null | 90 | 125.26 | | |
| | Ba | 89 | 122.47 | 0.0943 | 1 |
| Cd | Null | 90 | 125.26 | | |
| | Cd | 89 | 109.15 | >0.0001 | >0.0001 |
| Co | Null | 90 | 125.26 | | |
| | Co | 89 | 121.73 | 0.0604 | 1 |
| Cr | Null | 90 | 125.26 | | |
| | Cr | 89 | 124.17 | 0.2958 | 1 |
| Cu | Null | 90 | 125.26 | | |
| | Cu | 89 | 125.16 | 0.7488 | 1 |
| Fe | Null | 90 | 125.26 | | |
| | Fe | 89 | 114.66 | 0.0011 | 0.0187 |
| Hg | Null | 90 | 125.26 | | |
| | Hg | 89 | 124.67 | 0.4405 | 1 |
| Mn | Null | 90 | 125.26 | | |
| | Mn | 89 | 123.96 | 0.2537 | 1 |
| Ni | Null | 90 | 125.26 | | |
| | Ni | 89 | 119.7 | 0.0183 | 0.3111 |
| Pb | Null | 90 | 125.26 | | |
| | Pb | 89 | 124.45 | 0.3693 | 1 |
| Se | Null | 90 | 125.26 | | |
| | Se | 89 | 73.341 | >0.0001 | >0.0001 |
| Sr | Null | 90 | 125.26 | | |
| | Sr | 89 | 91.517 | >0.0001 | >0.0001 |
| V | Null | 90 | 125.26 | | |
| | V | 89 | 85.719 | >0.0001 | >0.0001 |
| Zn | Null | 90 | 125.26 | | |
| | Zn | 89 | 122.58 | 0.1015 | 1 |

Legenda: Null = nulový model; Df = Stupně volnosti; D.R. = Devianční rezidua; Chi = výsledek Chi-kvadrát testu; P= hladina významnosti po Bonferroniho korekci.

Obrázek 3: Porovnání naměřených koncentrací vybraných prvků ve tkáních žahadlových blanokřídých z odkališť a písčin metodou GEE za použití fylogenetické korekce (viz kapitola 3.4.). Jednotlivé sloupce zobrazují logaritmicky transformované naměřené koncentrace jednotlivých prvků ve tkáních blanokřídých z obou typů substrátu s vyznačením směrodatné odchylky. Hladina průkaznosti byla v tomto případě 0,004.

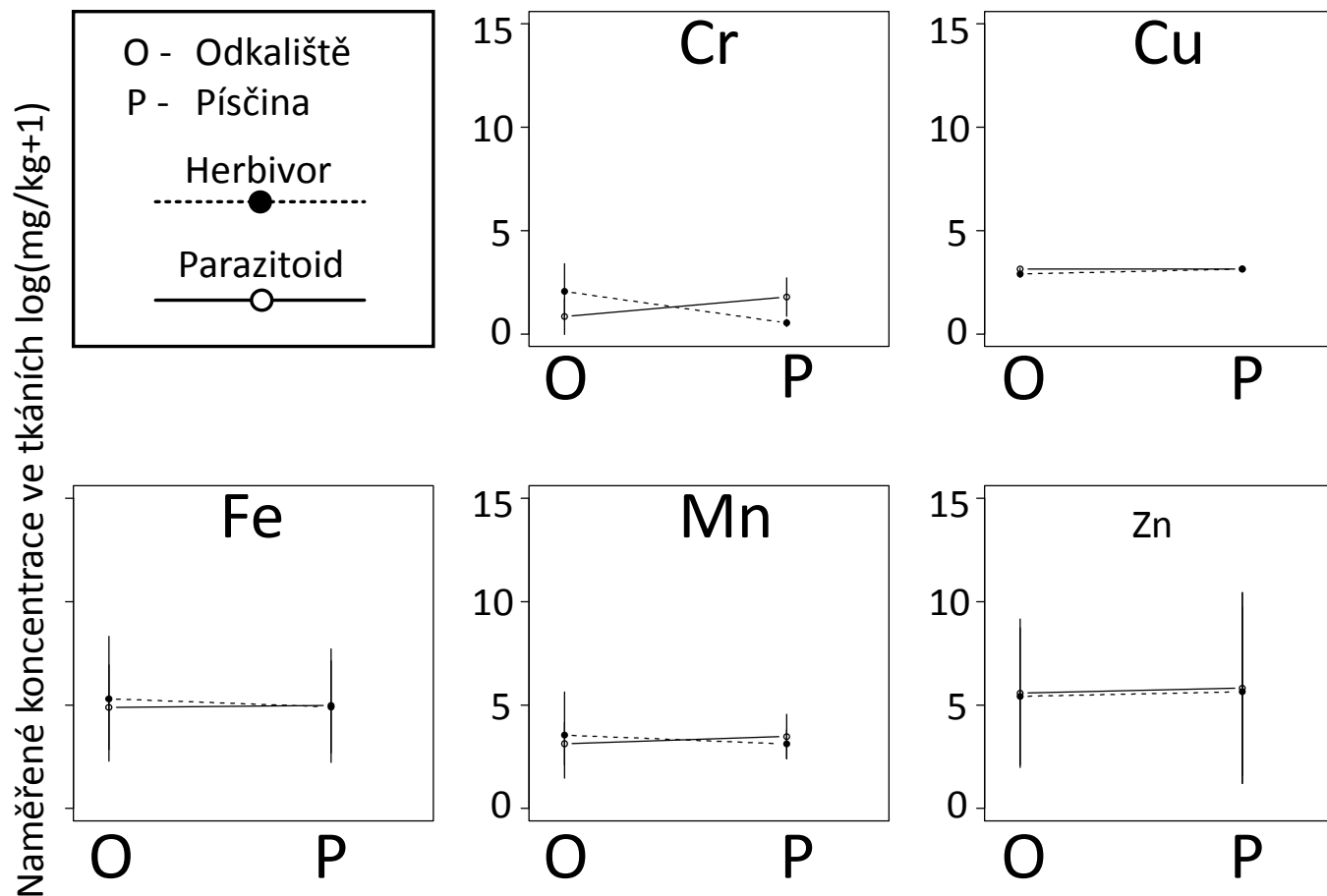


Tabulka 4: Výsledky analýz metodou GEE s použitím fylog. korekce pro analýzu vlivu substrátu a potravní strategie na koncentraci vybraných prvků ve tkáních blanokřídých (viz kapitola 3.4.)

| | | Estimate | SE | t | P | | | Estimate | SE | t | P |
|----|--------------|----------|--------|---------|---------|----|--------------|----------|--------|---------|--------|
| Ag | Intercept | -3.5630 | 0.5889 | -6.0506 | 0.1937 | Hg | Intercept | -3.4881 | 0.5749 | -6.0666 | 0.0660 |
| | Parazit | 0.7127 | 0.6047 | 1.1786 | | | Parazit | 0.6348 | 0.5904 | 1.0751 | |
| | Odkaliště | 0.1380 | 0.1250 | 1.1039 | | | Odkaliště | 0.2244 | 0.1220 | 1.8388 | |
| | Para.:Odkal. | -0.4675 | 0.1658 | -2.8187 | | | Para.:Odkal. | -0.5341 | 0.1619 | -3.2986 | |
| Al | Intercept | 4.2710 | 0.3280 | 13.0223 | 1 | Mn | Intercept | 2.7782 | 0.4975 | 5.5839 | 0.0049 |
| | Parazit | 0.1828 | 0.3368 | 0.5426 | | | Parazit | 0.5561 | 0.5109 | 1.0885 | |
| | Odkaliště | 0.5732 | 0.0696 | 8.2319 | | | Odkaliště | 0.5332 | 0.1056 | 5.0491 | |
| | Para.:Odkal. | -0.1292 | 0.0924 | -1.3989 | | | Para.:Odkal. | -0.6200 | 0.1401 | -4.4248 | |
| As | Intercept | -2.0649 | 1.0949 | -1.8859 | 0.3450 | Ni | Intercept | -0.4561 | 3.1972 | -0.1426 | 1 |
| | Parazit | 0.6968 | 1.1243 | 0.6197 | | | Parazit | 0.1388 | 3.2832 | 0.0423 | |
| | Odkaliště | 2.1736 | 0.2324 | 9.3515 | | | Odkaliště | 1.2080 | 0.6787 | 1.7798 | |
| | Para.:Odkal. | -0.7872 | 0.3084 | -2.5528 | | | Para.:Odkal. | -0.9906 | 0.9005 | -1.1000 | |
| Ba | Intercept | 0.9710 | 1.0630 | 0.9134 | 0.1002 | Pb | Intercept | -0.4561 | 3.1973 | -0.1426 | 1 |
| | Parazit | 0.8593 | 1.0916 | 0.7872 | | | Parazit | 0.1388 | 3.2832 | 0.0423 | |
| | Odkaliště | 0.2368 | 0.2257 | 1.0492 | | | Odkaliště | 1.2080 | 0.6788 | 1.7798 | |
| | Para.:Odkal. | -0.9325 | 0.2994 | -3.1145 | | | Para.:Odkal. | -0.9906 | 0.9005 | -1.1001 | |
| Cd | Intercept | -2.9040 | 0.6745 | -4.3056 | 1 | Se | Intercept | -0.6454 | 0.6617 | -0.9754 | 0.2437 |
| | Parazit | 0.6593 | 0.6926 | 0.9520 | | | Parazit | 0.0844 | 0.6794 | 0.1243 | |
| | Odkaliště | 0.9809 | 0.1432 | 6.8504 | | | Odkaliště | 1.2874 | 0.1404 | 9.1651 | |
| | Para.:Odkal. | -0.1509 | 0.1899 | -0.7943 | | | Para.:Odkal. | 0.5057 | 0.1863 | 2.7139 | |
| Co | Intercept | -1.9772 | 0.3102 | -6.3739 | 0.6661 | Sr | Intercept | 0.3350 | 0.2967 | 1.1294 | 0.4827 |
| | Parazit | 0.0127 | 0.3185 | 0.0400 | | | Parazit | 0.1760 | 0.3046 | 0.5779 | |
| | Odkaliště | 0.3012 | 0.0658 | 4.5733 | | | Odkaliště | 0.6271 | 0.0629 | 9.9570 | |
| | Para.:Odkal. | -0.1956 | 0.0874 | -2.2383 | | | Para.:Odkal. | -0.2000 | 0.0835 | -2.3940 | |
| Cr | Intercept | 0.2509 | 1.2285 | 0.2042 | 0.0312 | V | Intercept | -3.8951 | 1.3778 | -2.8269 | 0.2170 |
| | Parazit | 1.0187 | 1.2615 | 0.8075 | | | Parazit | 0.7461 | 1.4149 | 0.5273 | |
| | Odkaliště | 1.2131 | 0.2608 | 4.6516 | | | Odkaliště | 2.4658 | 0.2925 | 8.4301 | |
| | Para.:Odkal. | -1.2543 | 0.3460 | -3.6253 | | | Para.:Odkal. | -1.0737 | 0.3880 | -2.7668 | |
| Cu | Intercept | 3.2484 | 0.1260 | 25.7972 | 0.0040 | Zn | Intercept | 4.0646 | 1.7182 | 2.3655 | 0.0346 |
| | Parazit | -0.1219 | 0.1293 | -0.9424 | | | Parazit | 1.2776 | 1.7644 | 0.7241 | |
| | Odkaliště | -0.1234 | 0.0267 | -4.6175 | | | Odkaliště | 1.9425 | 0.3647 | 5.3254 | |
| | Para.:Odkal. | 0.1600 | 0.0354 | 4.5117 | | | Para.:Odkal. | -1.7323 | 0.4839 | -3.5797 | |
| Fe | Intercept | 4.7586 | 0.2469 | 19.2754 | 0.00159 | | | | | | |
| | Parazit | 0.0839 | 0.2535 | 0.3309 | | | | | | | |
| | Odkaliště | 0.4017 | 0.0524 | 7.6638 | | | | | | | |
| | Para.:Odkal. | -0.3419 | 0.0695 | -4.9167 | | | | | | | |

Legenda: Legenda: Etimate = odhad regresních koeficientů modelu; SE = střední chyba průměru, určující odlišnost průmětu hodnot náhodně získaného vzorku a průměru hodnot základního souboru; t = hodnota t-testu porovnávaných koncentrací; P= hladina významnosti po Bonferroniho korekci.

Obrázek 4: Porovnání naměřených koncentrací vybraných prků ve tkáních herbivorů a parazitoidů z odkališť a písčin metodou GEE za použití fylogenetické korekce (viz kapitola 3.4.). Hladina průkaznosti byla v tomto případě nižší než 0,05.



4. Diskuze

Průkazně vyšších koncentrací vybraných prvků v substrátu popílku odpovídá výsledkům jiných studií, zabývajících se obsahem prvků v substrátu odkališť (Hopkins et al. 1998; Jala and Goyal 2006; Tripathi et al. 2009; Riehl et al. 2010; Lopareva-Pohu et al. 2011). Většina prvků byla v substrátu naměřena v podobných koncentracích. Prvky které se svými vysokými koncentracemi vymykaly, byly Al a Fe, zatímco velice nízké byly naměřené hladiny Ag, Cd a Hg. Tento výsledek byl sice očekávaný, ale také bylo nutné nejdříve potvrdit, zda jsou i na lokalitách, zvolených pro účely této práce, přítomny vybrané prvky a zda jsou jejich koncentrace v substrátu vyšší na odkališti než na písčíně.

Prvky v písku obou písčin se zdají být zastoupeny zhruba ve stejné míře na obou lokalitách. Naproti tomu, substráty obou odkališť se koncentrací jednotlivých prvků v nich obsažených poměrně liší. Na tomto místě je nutno podotknout, že se obě odkaliště na první pohled odlišovaly strukturou substrátu, kdy na odkališti Synthesia byl substrát bohatý na větší kusy strusky. Je tedy možné, že rozdíl v koncentraci prvků v substrátu obou lokalit byl způsoben různým složením spalovaného materiálu a případným rozdílem v procesu spalování, což odpovídá studii Shaheen et al. (2014).

Co je ovšem překvapivé, je v porovnání s popílkem vysoká koncentrace některých vybraných prvků nejen v popílku. Měřením koncentrací vybraných prvků v písku byly odhaleny poměrně vysoké (ne však vyšší než v popílku) koncentrace Al, Ba, Fe, Mn a Sr. To by teoreticky mohlo znamenat, že tyto prvky by pro blanokřídle, kteří se stěhují na popílek coby náhradní substrát, nemusely nutně představovat hrozbu, neboť s nimi žijí i na písčinách.

Skutečnost, zda blanokřídli do svých tkání akumulují vybrané prvky rozvíjí výsledky analýz koncentrací prvků ve tkáních blanokřídlych. Signifikantně vyšší hladiny Al, As, Cd, Fe, Se, Sr a V naměřené ve tkáních blanokřídlych za použití metody GLM a navíc Co, Mn a Zn při použití metody GEE naznačuje, že se různé druhy blanokřídlych v míře akumulace liší spíše minimálně, což ale odporuje poznatkům akumulaci různých množství vybraných prvků různými druhy (Goodyear and McNeill 1999).

Pokud lze označit metodu GEE s použitím fylogenetické korekce za vhodnější, pak lze tvrdit, že blanokřídli z odkališť prokazatelně akumulují vyšší hladiny Al, As,

Cd, Co, Fe, Mn, Se, Sr a V než blanokřídlí z písčin. Vyšší hladina As, Fe, Sr a Zn ve tkáních blanokřídlých z odkališť odpovídá výsledkům studií mravenců (Eeva et al. 2004; Gramigni et al. 2011). Je možné, že akumulace těchto prvků je vázána na kontakt se substrátem, které je pro mravence i psamofilní žahadlové blanokřídlé běžný. Vyšší hladina Cd a Zn odpovídá studii pavouků (Wilczek et al. 2005). Jelikož jsou pavouci karnivorní, existuje jistá pravděpodobnost, že tyto prvky akumulují z části v důsledku požívání tkání žahadlových blanokřídlých. Hladiny Cd a Zn byly vyšší také u zednici rezavé (Moroń et al. 2014). Je pravděpodobné, že vzhledem k potravě zednice rezavé, kterou tvoří pyl a nektar (Macek et al. 2010), právě zdrojem zmíněných prvků rostlinná potrava. Na druhou stranu byly u některých ze zmíněných skupin naměřeny prokazatelně vyšší hladiny Cu, Ni a Pb (Eeva et al. 2004; Wilczek et al. 2005; Moroń et al. 2014). Vzhledem k tomu, že rozdíly mezi naměřenými koncentracemi ve tkáních blanokřídlých z písčin a z odkališť byly jen velice malé, a to i navzdory faktu, že Ni se zdá být na písčinách jen nepatrné množství, hraje v tomto případě zřejmě roli jeden nebo více nesledovaných faktorů.

Skutečnost, že blanokřídlí z odkališť do svých tkání ve vyšších koncentracích akumulují více než polovinu vybraných prvků vyvrací možný předpoklad, že tato skupina vybrané prvky vůbec nepřijímá. Na druhou stranu, to že ve tkáních jedinců byly naměřeny někdy i vysoké koncentrace vybraných prvků nemusí nutně znamenat, že by tím blanokřídlí významně trpěli. Samotný fakt, že na odkalištích žijí i původně vyhynulé druhy (Tropek et al. 2013) poukazuje na možnost, že jsou prvky ve tkáních blanokřídlých uloženy v podobě, která jim, přinejmenším nezpůsobuje vážné potíže. Schopnost ukládat prvky do tkání v metabolicky neaktivní, tudíž neškodné, podobě byla zdokumentována u vodních plžů (AbdAllah 2014). Nelze proto vyloučit možnost, že blanokřídlí nemají podobný obranný mechanismus a že pro ně substrát odkališť opravdu představuje bezpečnou a přijatelnou náhradu za písek.

Nejpřekvapivěji se jeví výsledek analýzy množství naakumulovaných prvků ve tkáních blanokřídlých vzhledem k typu substrátu a potravní strategii. Navzdory předpokladu, že jedinci z odkališť akumulují vyšší množství vybraných prvků do svých tkání, v důsledku vyšší koncentrace těchto prvků v prostředí, které obývají, se ukázalo, že je toto tvrzení pravdivé jen u zlomku vybraných prvků. Svou roli zde zřejmě sehrála kombinace faktorů. Jedním z nich by mohlo být rozdílné druhové složení na popílku a písku, kdy některé druhy byly hojně zastoupeny buďto na jednom

nebo na druhém substrátu. V této práci nebyly měřeny koncentrace vybraných prvků v rostlinách a ani nebyl proveden botanický průzkum na lokalitách. Nicméně lze předpokládat, že se lokality stejně jako faunou lišili i flórou. Je možné, že různí herbivoři měli k dispozici nebo dávali přednost na různých lokalitách odlišným druhům rostlin a tím se měnilo i množství vybraných prvků, které akumulovali. Dalším faktorem je pak biologická dostupnost naakumulovaných prvků pro případné parazitoidy (Rodrigues et al. 2008). Vzhledem k druhové rozdílnosti typů substrátu, bylo i zastoupení druhů parazitoidů na obou typech substrátu rozdílné. Různé druhy parazitoidů si vybírají odlišné hostitele (Macek et al. 2010), kteří pravděpodobně akumulují rozdílné množství vybraných prvků a ukládají je v biologicky dostupné nebo nedostupné podobě (Rodrigues et al. 2008).

Nelze opomenout roli detoxikace a prevence intoxikace některých prvků. Za předpokladu, že žahadloví blanokřídlí, ať už herbivoři nebo parazitoidi, získají většinu své tělesné váhy během larválního stádia, kdy intenzivně přijímají potravu (Macek et al. 2010), je pravděpodobné, že i většinu vybraných prvků přijímají tito bezobratlí před metamorfózou. Nelze vyloučit, že právě během metamorfózy dochází k částečné a možná i druhově specifické detoxikaci některých prvků, jako je tomu například u jepice *Centroptilum triangulifer*, která se během metamorfózy zbavuje účinně zinku (Kim 2012). Svůj vliv má pravděpodobně také prevence intoxikace jedinců některými vybranými prvky, jako je tomu u chrostíků *Hydropsyche californica*, kdy bylo pozorováno, že jedinci, kteří se s kadmíem již setkali, naakumulovali menší množství tohoto prvku než jedinci vystavení kadmíu poprvé (Cain et al. 2006) a nelze vyloučit podobný jev u žahadlových blanokřídlých.

5. Závěr

Postindustriální stanoviště, jakými jsou i struskopopílková odkaliště, se v posledních několika letech ukázala jako významná z hlediska ochrany mnohdy ohrožených psamofilních žahadlových blanokřídlých (Řehounek 2010; Tropek and Řehounek 2012; Tropek et al. 2012, 2013) i přes to, že jejich substrát skýtá nebezpečí v podobě toxických těžkých kovů (Hopkins et al. 1998; Jala and Goyal 2006; Tripathi et al. 2009; Riehl et al. 2010; Lopareva-Pohu et al. 2011). Právě skutečnost že se psamofilní žahadloví blanokřídlí na odkalištích vyskytují i přes přítomnost vybraných prvků v substrátu popílku a v jejich tkáních vede nevyhnutelně k závěru, že toto téma není v žádném případě vyčerpáno.

Pro rozšíření poznatků o potenciálním negativním vlivu vybraných prvků na blanokřídlé obývající popílek coby náhradní substrát za vátý písek, bude třeba v budoucnu provést další výzkumy, které například zohlední koncentraci prvků ve tkáních před a po metamorfóze pro potvrzení nebo vyvrácení detoxikace prvků během metamorfózy. Nebo prvky obsažené ve tkáních konkrétních rostlinných druhů, které slouží herbivorům jako zdroj potravy a získat tak povědomí o transferu vybraných prvků napříč trofickými úrovněmi.

6.Literatura

- AbdAllah, A. T. 2014. "Light Structure as Biomarker for Heavy Metal Bioaccumulation and Toxicity in Molluscan Gastropods." <http://www.formatex.info/microscopy6/book/330-334.pdf>.
- AbdAllah, A. T., and M. A. Moustafa. 2002. "Accumulation of Lead and Cadmium in the Marine Prosobranch *Nerita Saxtilis*, Chemical Analysis, Light and Electron Microscopy." *Environmental Pollution* 116 (2): 185–191.
- Bachman, G. R., and W. B. Miller. 1995. "Iron Chelate Inducible Iron/manganese Toxicity in Zonal Geranium." *Journal of Plant Nutrition* 18 (9): 1917–29. doi:10.1080/01904169509365033.
- Bergeron, Christine M., Catherine M. Bodinof, Jason M. Unrine, and William A. Hopkins. 2010. "Bioaccumulation and Maternal Transfer of Mercury and Selenium in Amphibians." *Environmental Toxicology and Chemistry* 29 (4): 989–97. doi:10.1002/etc.125.
- Bogusch, Petr, Jakub Straka, and Antonín Přidal. 2007. "Apoidea: Apiformes (Včely)." *Annotated Checklist of the Aculeata (Hymenoptera) of the Czech Republic and Slovakia. Komentovaný Seznam Žahadlových Blanokřídých (Hymenoptera: Aculeata) České Republiky a Slovenska. Acta Entomologica Musei Nationalis Pragae, Supplementum* 11: 1–300.
- Bordean, Despina-Maria, Dragos V. Nica, Monica Harmanescu, Ionut Banatean-Dunea, and Iosif I. Gergen. 2014. "Soil Manganese Enrichment from Industrial Inputs: A Gastropod Perspective." Edited by Fanis Missirlis. *PLoS ONE* 9 (1): e85384. doi:10.1371/journal.pone.0085384.
- Bryan, A. L., W. A. Hopkins, J. A. Baionno, and B. P. Jackson. 2003. "Maternal Transfer of Contaminants to Eggs in Common Grackles (*Quiscalus Quiscal*) Nesting on Coal Fly Ash Basins." *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 45 (2): 273–77. doi:10.1007/s00244-002-0212-9.
- Bryan, A.L., W.A. Hopkins, J.H. Parikh, B.P. Jackson, and J.M. Unrine. 2012. "Coal Fly Ash Basins as an Attractive Nuisance to Birds: Parental Provisioning Exposes Nestlings to Harmful Trace Elements." *Environmental Pollution* 161 (February): 170–77. doi:10.1016/j.envpol.2011.10.021.

- Burke, John N., Christine M. Bergeron, Brian D. Todd, and William A. Hopkins. 2010. "Effects of Mercury on Behavior and Performance of Northern Two-Lined Salamanders (*Eurycea Bislineata*).” *Environmental Pollution* 158 (12): 3546–51. doi:10.1016/j.envpol.2010.08.017.
- Cain, Daniel J., David B. Buchwalter, and Samuel N. Luoma. 2006. "Influence of Metal Exposure History on the Bioaccumulation and Subcellular Distribution of Aqueous Cadmium in the Insect *Hydropsyche Californica*.” *Environmental Toxicology and Chemistry* 25 (4): 1042–1049.
- Caroli, S., G. Forte, A. L. Iamiceli, and B. Galoppi. 1999. "Determination of Essential and Potentially Toxic Trace Elements in Honey by Inductively Coupled Plasma-Based Techniques.” *Talanta* 50 (2): 327–336.
- Chin, Stephanie Y., John D. Willson, Daniel A. Cristol, David V.V. Drewett, and William A. Hopkins. 2013a. "High Levels of Maternally Transferred Mercury Do Not Affect Reproductive Output or Embryonic Survival of Northern Watersnakes (*Nerodia Sipedon*).” *Environmental Toxicology and Chemistry* 32 (3): 619–26. doi:10.1002/etc.2095.
- . 2013b. "Altered Behavior of Neonatal Northern Watersnakes (*Nerodia Sipedon*) Exposed to Maternally Transferred Mercury.” *Environmental Pollution* 176 (May): 144–50. doi:10.1016/j.envpol.2013.01.030.
- "Cittadella.cz.” 2016. *Cittadella.cz*. August 7. http://www.cittadella.cz/europarc/index.php?p=index&site=NPP_seminsky_presyp_cz.
- Croisetière, Louis, Landis Hare, and André Tessier. 2006. "A Field Experiment To Determine the Relative Importance of Prey and Water as Sources of As, Cd, Co, Cu, Pb, and Zn for the Aquatic Invertebrate *Sialis Velata*.” *Environmental Science & Technology* 40 (3): 873–79. doi:10.1021/es0516209.
- De Dorlodot, Sophie, Stanley Lutts, and Pierre Bertin. 2005. "Effects of Ferrous Iron Toxicity on the Growth and Mineral Composition of an Interspecific Rice.” *Journal of Plant Nutrition* 28 (1): 1–20. doi:10.1081/PLN-200042144.
- Dolanský, Jan. 1998. "Příspěvek K Poznání Arachnofauny Východního Polabí.” *VČ. Sb. přír.–Práce a Studie*, 107–16.
- . 2002. "Arachnofauna Písečín a Bílých Strání Východních Čech.” *VČ. Sb. přír.–Práce a Studie*, 285–310.

- Duffus, J. H. 2002. “‘Heavy Metals’ a Meaningless Term? (IUPAC Technical Report).” *Pure and Applied Chemistry* 74 (5). doi:10.1351/pac200274050793.
- Eeva, T., J. Sorvari, and V. Koivunen. 2004. “Effects of Heavy Metal Pollution on Red Wood Ant (*Formica S. Str.*) Populations.” *Environmental Pollution* 132 (3): 533–39. doi:10.1016/j.envpol.2004.05.004.
- Exeler, Nina, Anselm Kratochwil, and Axel Hochkirch. 2009. “Restoration of Riverine Inland Sand Dune Complexes: Implications for the Conservation of Wild Bees.” *Journal of Applied Ecology* 46 (5): 1097–1105. doi:10.1111/j.1365-2664.2009.01701.x.
- Filipiak, Marta, Grzegorz Tylko, and Elzbieta Pyza. 2012. “Zinc Induces Caspase-Dependent Mitochondrial Pathway of the Programmed Cell Death in Haemocytes of *Drosophila Melanogaster*.” *BioMetals* 25 (3): 507–16. doi:10.1007/s10534-012-9530-1.
- Fontes, Renildes L. F., and Fred R. Cox. 1998. “Iron Deficiency and Zinc Toxicity in Soybean Grown in Nutrient Solution with Different Levels of Sulfur.” *Journal of Plant Nutrition* 21 (8): 1715–22. doi:10.1080/01904169809365516.
- Ganser, Lisa Rania, William A. Hopkins, Lauren O’Neil, Shannon Hasse, John H. Roe, and David M. Sever. 2003. “Liver Histopathology of the Southern Watersnake, *Nerodia Fasciata Fasciata*, Following Chronic Exposure to Trace Element-Contaminated Prey from a Coal Ash Disposal Site.” *Journal of Herpetology* 37 (1): 219–26. doi:10.1670/0022-1511(2003)037[0219:LHOTSW]2.0.CO;2.
- Gensemer, Robert W., and Richard C. Playle. 1999. “The Bioavailability and Toxicity of Aluminum in Aquatic Environments.” *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 29 (4): 315–450. doi:10.1080/10643389991259245.
- Gomes, Susana I.L., Ditte Hansen, Janeck J. Scott-Fordsmand, and Mónica J.B. Amorim. 2015. “Effects of Silver Nanoparticles to Soil Invertebrates: Oxidative Stress Biomarkers in *Eisenia Fetida*.” *Environmental Pollution* 199 (April): 49–55. doi:10.1016/j.envpol.2015.01.012.

- Goodyear, K. L., and S. McNeill. 1999. "Bioaccumulation of Heavy Metals by Aquatic Macro-Invertebrates of Different Feeding Guilds: A Review." *Science of the Total Environment* 229 (1): 1–19.
- Gramigni, E., S. Calusi, G. Chelazzi, F. Del Greco, G. Delfino, N. Gelli, L. Giuntini, M. Massi, and G. Santini. 2011. "Analysis of Metal Deposit Distribution in Ants (*Crematogaster Scutellaris*) at the Florence External Scanning Microbeam." *X-Ray Spectrometry* 40 (3): 186–90. doi:10.1002/xrs.1308.
- Gramigni, Elisa, Silvia Calusi, Nicla Gelli, Lorenzo Giuntini, Mirko Massi, Giovanni Delfino, Guido Chelazzi, David Baracchi, Filippo Frizzi, and Giacomo Santini. 2013. "Ants as Bioaccumulators of Metals from Soils: Body Content and Tissue-Specific Distribution of Metals in the Ant *Crematogaster Scutellaris*." *European Journal of Soil Biology* 58 (September): 24–31. doi:10.1016/j.ejsobi.2013.05.006.
- Guo, Jiangbo, Xiaojing Dai, Wenzhong Xu, and Mi Ma. 2008. "Overexpressing GSH1 and AsPCS1 Simultaneously Increases the Tolerance and Accumulation of Cadmium and Arsenic in *Arabidopsis Thaliana*." *Chemosphere* 72 (7): 1020–26. doi:10.1016/j.chemosphere.2008.04.018.
- Gutzerová, Naděžda. 2013. "Botany.cz." September 18. <http://botany.cz/cs/vesecky-kopec/>.
- Hedtke, Shannon M, Sébastien Patiny, and Bryan N Danforth. 2013. "The Bee Tree of Life: A Supermatrix Approach to Apoid Phylogeny and Biogeography." *BMC Evolutionary Biology* 13 (1): 138. doi:10.1186/1471-2148-13-138.
- Hopkins, W. A., M. T. Mendonça, C. L. Rowe, and J. D. Congdon. 1998. "Elevated Trace Element Concentrations in Southern Toads, *Bufo Terrestris*, Exposed to Coal Combustion Waste." *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 35 (2): 325–329.
- Hopkins, W. A., J. H. Roe, J. W. Snodgrass, B. P. Jackson, D. E. Kling, C. L. Rowe, and J. D. Congdon. 2001. "Nondestructive Indices of Trace Element Exposure in Squamate Reptiles." *Environmental Pollution* 115 (1): 1–7.
- Hopkins, W. A., J. W. Snodgrass, J. H. Roe, B. P. Jackson, J. C. Gariboldi, and J. D. Congdon. 2000. "Detrimental Effects Associated with Trace Element Uptake in Lake Chubsuckers (*Erimyzon Sucetta*) Exposed to Polluted Sediments."

- Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 39 (2): 193–99.
doi:10.1007/s002440010096.
- Hopkins, William A., Justin Congdon, and John K. Ray. 2000. “INCIDENCE AND IMPACT OF AXIAL MALFORMATIONS IN LARVAL BULLFROGS (*RANA CATESBEIANA*) DEVELOPING IN SITES POLLUTED BY A COAL-BURNING POWER PLANT.” *Environmental Toxicology and Chemistry* 19 (4): 862. doi:10.1897/1551-5028(2000)019<0862:IAIOAM>2.3.CO;2.
- Hopkins, William A., Laralea B. Hopkins, Jason M. Unrine, Joel Snodgrass, and James D. Elliot. 2007. “Mercury Concentrations in Tissues of Osprey From the Carolinas, USA.” *Journal of Wildlife Management* 71 (6): 1819–29. doi:10.2193/2006-016.
- Hopkins, William A., John H. Roe, Joel W. Snodgrass, Brandon P. Staub, Brian P. Jackson, and Justin D. Congdon. 2002. “EFFECTS OF CHRONIC DIETARY EXPOSURE TO TRACE ELEMENTS ON BANDED WATER SNAKES (*NERODIA FASCIATA*).” *Environmental Toxicology and Chemistry* 21 (5): 906. doi:10.1897/1551-5028(2002)021<0906:EOCDET>2.0.CO;2.
- Hopkins, William A., Christopher L. Rowe, and Justin D. Congdon. 1999. “ELEVATED TRACE ELEMENT CONCENTRATIONS AND STANDARD METABOLIC RATE IN BANDED WATER SNAKES (*NERODIA FASCIATA*) EXPOSED TO COAL COMBUSTION WASTES.” *Environmental Toxicology and Chemistry* 18 (6): 1258. doi:10.1897/1551-5028(1999)018<1258:ETECAS>2.3.CO;2.
- Hopkins, William A, Brandon P Staub, Jennifer A Baionno, Brian P Jackson, John H Roe, and Neil B Ford. 2004. “Trophic and Maternal Transfer of Selenium in Brown House Snakes (*Lamprophis Fuliginosus*).” *Ecotoxicology and Environmental Safety* 58 (3): 285–93. doi:10.1016/S0147-6513(03)00076-9.
- Hopkins, William A., Christopher P. Tatara, Heather A. Brant, and Charles H. Jagoe. 2003. “RELATIONSHIPS BETWEEN MERCURY BODY CONCENTRATIONS, STANDARD METABOLIC RATE, AND BODY MASS IN EASTERN MOSQUITOFISH (*GAMBUSIA HOLBROOKI*) FROM THREE EXPERIMENTAL POPULATIONS.” *Environmental*

- Toxicology and Chemistry* 22 (3): 586. doi:10.1897/1551-5028(2003)022<0586:RBMBCS>2.0.CO;2.
- Hoskovec, Ladislav. 2008. "Botany.cz." February 24. <http://botany.cz/cs/vate-pisky/>.
- Hotelling, H. 1933. "Analysis of a Complex of Statistical Variables Into Principal Components." *Journal of Educational Psychology*, no. 24: 417-441-520.
- <Http://www.tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>, 2016. 2016.
<http://www.tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>, 2016.
- Jala, S, and D Goyal. 2006. "Fly Ash as a Soil Ameliorant for Improving Crop Production—a Review." *Bioresource Technology* 97 (9): 1136–47. doi:10.1016/j.biortech.2004.09.004.
- Kim, K. S., D. H. Funk, and D. B. Buchwalter. 2012. "Dietary (Periphyton) and Aqueous Zn Bioaccumulation Dynamics in the Mayfly *Centroptilum Triangulifer*." *Ecotoxicology* 21 (8): 2288–96. doi:10.1007/s10646-012-0985-1.
- Kolář, Ladislav. 1969. *Popílky a Možnost Jejich Využití*. Praha: Mír 1.
- Konvička, Martin, Jiří Beneš, and Lukáš Čížek. 2005. *Ohrožený Hmyz Nelesních Stanovišť: Ochrana a Management*. Olomouc: Sagittaria.
- Koster, Eduard A. 2009. "The 'European Aeolian Sand Belt': Geoconservation of Drift Sand Landscapes." *Geoheritage* 1 (2–4): 93–110. doi:10.1007/s12371-009-0007-8.
- Kumar, Gulshan, Rana P. Singh, and Sushila. 1993. "Nitrate Assimilation and Biomass Production in *Sesamum Indicum* L. Seedlings in a Lead Enriched Environment." *Water, Air, & Soil Pollution* 66 (1–2): 163–71. doi:10.1007/BF00477067.
- Ladányi, Vít. 2009. "Třinecké Odkaliště Jako Refugium Zajímavých Druhů." *Živa* 2009 (6): 255–56.
- Lancôt, C., W. Bennett, S. Wilson, L. Fabbro, F.D.L. Leusch, and S.D. Melvin. 2016. "Behaviour, Development and Metal Accumulation in Striped Marsh Frog Tadpoles (*Limnodynastes Peronii*) Exposed to Coal Mine Wastewater." *Aquatic Toxicology* 173 (April): 218–27. doi:10.1016/j.aquatox.2016.01.014.
- Lenntech Water Treatment and Air Purification. 2017. "Water Treatment. Lenntech, Rotterdamseweg, Netherlands." January 2. <http://www.lenntech.com/processes/heavy/heavy-metals/heavy-metals.htm>.

- Lewis, S., M. E. Donkin, and M. H. Depledge. 2001. "Hsp70 Expression in *Enteromorpha Intestinalis* (Chlorophyta) Exposed to Environmental Stressors." *Aquatic Toxicology (Amsterdam, Netherlands)* 51 (3): 277–91.
- Liang, Kung-Yee, and Scott L. Zeger. 1986. "Longitudinal Data Analysis Using Generalized Linear Models." *Biometrika* 73 (1): 13. doi:10.2307/2336267.
- Lopareva-Pohu, Alena, Bertrand Pourrut, Christophe Waterlot, Guillaume Garçon, Géraldine Bidar, Christelle Pruvot, Pirouz Shirali, and Francis Douay. 2011. "Assessment of Fly Ash-Aided Phytostabilisation of Highly Contaminated Soils after an 8-Year Field Trial." *Science of The Total Environment* 409 (3): 647–54. doi:10.1016/j.scitotenv.2010.10.040.
- Macek, Jan, Jakub Straka, Petr Bogusch, Libor Dvořák, Pavel Bezděčka, and Pavel Tyrner. 2010. *Blanokřídli České Republiky*. Vyd. 1. Atlas. Praha: Academia.
- McCullagh, P., and John A. Nelder. 1998. *Generalized Linear Models*. 2nd ed. Monographs on Statistics and Applied Probability 37. Boca Raton: Chapman & Hall/CRC.
- Mendes, L., V. Maria, J. Scott-Fordsmand, and M. Amorim. 2015. "Ag Nanoparticles (Ag NM300K) in the Terrestrial Environment: Effects at Population and Cellular Level in *Folsomia Candida* (Collembola)." *International Journal of Environmental Research and Public Health* 12 (10): 12530–42. doi:10.3390/ijerph121012530.
- Metts, Brian S., Kurt A. Buhlmann, Tracey D. Tuberville, David E. Scott, and William A. Hopkins. 2013. "Maternal Transfer of Contaminants and Reduced Reproductive Success of Southern Toads (*Bufo* [Anaxyrus] *Terrestris*) Exposed to Coal Combustion Waste." *Environmental Science & Technology* 47 (6): 2846–53. doi:10.1021/es303989u.
- Moroń, Dawid, Hajnalka Szentgyörgyi, Piotr Skórka, Simon G. Potts, and Michał Woyciechowski. 2014. "Survival, Reproduction and Population Growth of the Bee Pollinator, *Osmia Rufa* (Hymenoptera: Megachilidae), along Gradients of Heavy Metal Pollution." Edited by Alan Stewart and David Roubik. *Insect Conservation and Diversity* 7 (2): 113–21. doi:10.1111/icad.12040.
- Munger, Catherine, and Landis Hare. 1997. "Relative Importance of Water and Food as Cadmium Sources to an Aquatic Insect (*Chaoborus Punctipennis*):

- Implications for Predicting Cd Bioaccumulation in Nature.” *Environmental Science & Technology* 31 (3): 891–895.
- Oksanen, Jari, F. Guillaume Blanchet, Michael Friendly, Roeland Kindt, Pierre Legendre, Dan McGlinn, Peter R. Minchin, et al. 2016. *Community Ecology Package*.
- Pandey, Nalini, and Chandra Prakash Sharma. 2002. “Effect of Heavy Metals Co^{2+} , Ni^{2+} and Cd^{2+} on Growth and Metabolism of Cabbage.” *Plant Science* 163 (4): 753–58. doi:10.1016/S0168-9452(02)00210-8.
- Paradis, E., J. Claude, and K. Strimmer. 2004. “APE: Analyses of Phylogenetics and Evolution in R Language.” *Bioinformatics* 20 (2): 289–90. doi:10.1093/bioinformatics/btg412.
- Peltier, Gretchen Loeffler, Meredith S. Wright, William A. Hopkins, and Judy L. Meyer. 2009. “Accumulation of Trace Elements and Growth Responses in Corbicula Fluminea Downstream of a Coal-Fired Power Plant.” *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72 (5): 1384–91. doi:10.1016/j.ecoenv.2009.01.011.
- Ponton, Dominic E., and Landis Hare. 2010. “Nickel Dynamics in the Lakewater Metal Biomonitor Chaoborus.” *Aquatic Toxicology* 96 (1): 37–43. doi:10.1016/j.aquatox.2009.09.011.
- Poteat, M. D., and D. B. Buchwalter. 2014. “Calcium Uptake in Aquatic Insects: Influences of Phylogeny and Metals (Cd and Zn).” *Journal of Experimental Biology* 217 (7): 1180–86. doi:10.1242/jeb.097261.
- Prausová, Romana, Miroslav Mikát, and Miroslav Mikeska. 2007. “Plán Péče O Přírodní Památku Vesecký Kopec Na Období 2012-2021.” Rada pardubického kraje.
- Rabitsch, W. B. 1997. “Tissue-Specific Accumulation Patterns of Pb, Cd, Cu, Zn, Fe, and Mn in Workers of Three Ant Species (Formicidae, Hymenoptera) from a Metal-Polluted Site.” *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 32 (2): 172–177.
- R Core Team. 2015. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing. Available at: <https://www.r-project.org/>.

- Ramezaniapour, Ali Akbar. 2014. "Fly Ash." In *Cement Replacement Materials*, by Ali Akbar Ramezaniapour, 47–156. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-36721-2_2.
- Řehounek, Jiří, Klára Řehouňková, and Karel Prach. 2010. *Ekologická obnova území narušených těžbou nerostných surovin a průmyslovými deponiemi*. České Budějovice: Calla.
- Revell, Liam J. 2016. *Phylogenetic Tools for Comparative Biology (and Other Things)* (version 0.6-00).
- Riehl, A., F. Elsass, J. Duplay, F. Huber, and M. Trautmann. 2010. "Changes in Soil Properties in a Fluvisol (Calcaric) Amended with Coal Fly Ash." *Geoderma* 155 (1–2): 67–74. doi:10.1016/j.geoderma.2009.11.025.
- Riksen, Michel, Rita Ketner-Oostra, Chris van Turnhout, Marijn Nijssen, Dirk Goossens, Pim D. Jungerius, and Wim Spaan. 2006. "Will We Lose the Last Active Inland Drift Sands of Western Europe? The Origin and Development of the Inland Drift-Sand Ecotype in the Netherlands." *Landscape Ecology* 21 (3): 431–47. doi:10.1007/s10980-005-2895-6.
- Riksen, Michel, Wim Spaan, and Leo Stroosnijder. 2008. "How to Use Wind Erosion to Restore and Maintain the Inland Drift-Sand Ecotype in the Netherlands?" *Journal for Nature Conservation* 16 (1): 26–43. doi:10.1016/j.jnc.2007.07.002.
- Rodrigues, Armindo, Luís Cunha, André Amaral, Jorge Medeiros, and Patrícia Garcia. 2008. "Bioavailability of Heavy Metals and Their Effects on the Midgut Cells of a Phytophagous Insect Inhabiting Volcanic Environments." *Science of The Total Environment* 406 (1–2): 116–22. doi:10.1016/j.scitotenv.2008.07.069.
- Roe, John H., William A. Hopkins, Jennifer A. Baionno, Brandon P. Staub, Christopher L. Rowe, and Brian P. Jackson. 2004. "MATERNAL TRANSFER OF SELENIUM IN ALLIGATOR MISSISSIPPIENSIS NESTING DOWNSTREAM FROM A COAL-BURNING POWER PLANT." *Environmental Toxicology and Chemistry* 23 (8): 1969. doi:10.1897/03-520.
- Rowe, Christopher L., Andrew Heyes, and William Hopkins. 2009. "Effects of Dietary Vanadium on Growth and Lipid Storage in a Larval Anuran: Results

- from Studies Employing Ad Libitum and Rationed Feeding.” *Aquatic Toxicology* 91 (2): 179–86. doi:10.1016/j.aquatox.2008.06.002.
- Rowe, Christopher L., William A. Hopkins, and V.R. Coffin. 2001. “Failed Recruitment of Southern Toads (*Bufo Terrestris*) in a Trace Element-Contaminated Breeding Habitat: Direct and Indirect Effects That May Lead to a Local Population Sink.” *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 40 (3): 399–405. doi:10.1007/s002440010189.
- Rowe, Christopher L., William A. Hopkins, Caralyn Zehnder, and Justin D. Congdon. 2001. “Metabolic Costs Incurred by Crayfish (< i> Procambarus Acutus</i>) in a Trace Element-Polluted Habitat: Further Evidence of Similar Responses among Diverse Taxonomic Groups.” *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 129 (3): 275–283.
- Shaheen, Sabry M., Peter S. Hooda, and Christos D. Tsadilas. 2014. “Opportunities and Challenges in the Use of Coal Fly Ash for Soil Improvements – A Review.” *Journal of Environmental Management* 145 (December): 249–67. doi:10.1016/j.jenvman.2014.07.005.
- Snodgrass, J. W., B. P. Staub, B. P. Jackson, W. A. Hopkins, and J. D. Congdon. 2003. “Altered Swimming Performance of a Benthic Fish (*Erimyzon Sucetta*) Exposed to Contaminated Sediments.” *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 44 (3): 383–89. doi:10.1007/s00244-002-2030-5.
- Snodgrass, Joel W., William A. Hopkins, and John H. Roe. 2003. “RELATIONSHIPS AMONG DEVELOPMENTAL STAGE, METAMORPHIC TIMING, AND CONCENTRATIONS OF ELEMENTS IN BULLFROGS (*RANA CATESBEIANA*).” *Environmental Toxicology and Chemistry* 22 (7): 1597. doi:10.1897/1551-5028(2003)22<1597:RADSM>2.0.CO;2.
- Solà, Carolina, and Narcís Prat. 2006. “Monitoring Metal and Metalloid Bioaccumulation in Hydropsyche (Trichoptera, Hydropsychidae) to Evaluate Metal Pollution in a Mining River. Whole Body versus Tissue Content.” *Science of The Total Environment* 359 (1–3): 221–31. doi:10.1016/j.scitotenv.2005.04.007.

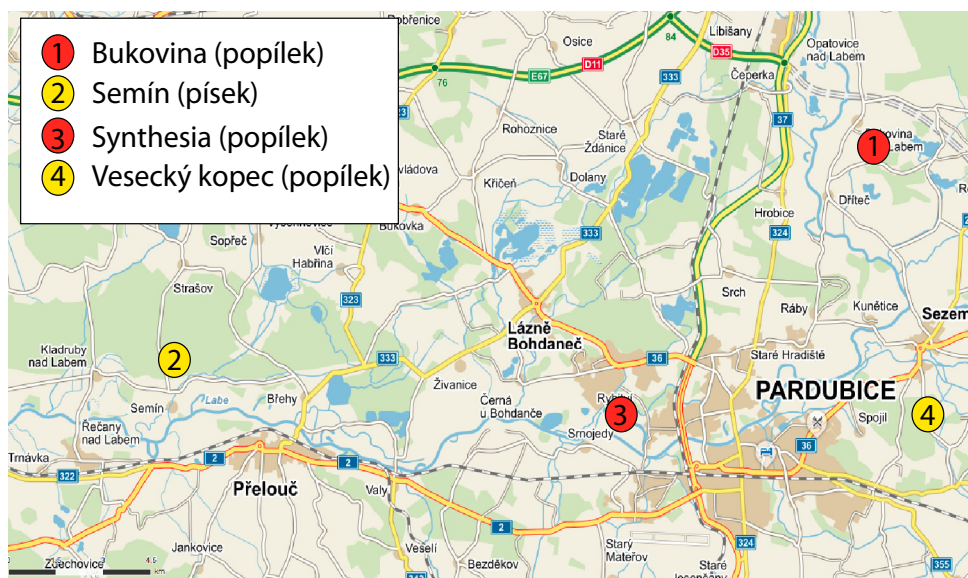
- Staub, B. P., W. A. Hopkins, J. Novak, and J. D. Congdon. 2004. "Respiratory and Reproductive Characteristics of Eastern Mosquitofish (*Gambusia Holbrooki*) Inhabiting a Coal Ash Settling Basin." *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 46 (1): 96–101. doi:10.1007/s00244-003-0240-0.
- Todd, Brian D., Christine M. Bergeron, Mark J. Hepner, and William A. Hopkins. 2011. "Aquatic and Terrestrial Stressors in Amphibians: A Test of the Double Jeopardy Hypothesis Based on Maternally and Trophically Derived Contaminants." *Environmental Toxicology and Chemistry* 30 (10): 2277–84. doi:10.1002/etc.617.
- Tollett, V. D., E. L. Benvenuti, L. A. Deer, and T. M. Rice. 2009. "Differential Toxicity to Cd, Pb, and Cu in Dragonfly Larvae (Insecta: Odonata)." *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 56 (1): 77–84. doi:10.1007/s00244-008-9170-1.
- Tripathi, Ramesh C., Reginald E. Masto, and Lal C. Ram. 2009. "Bulk Use of Pond Ash for Cultivation of Wheat–maize–eggplant Crops in Sequence on a Fallow Land." *Resources, Conservation and Recycling* 54 (2): 134–39. doi:10.1016/j.resconrec.2009.07.009.
- Tropek, Robert, Ilona Cerna, Jakub Straka, Oldrich Cizek, and Martin Konvicka. 2013. "Is Coal Combustion the Last Chance for Vanishing Insects of Inland Drift Sand Dunes in Europe?" *Biological Conservation* 162 (June): 60–64. doi:10.1016/j.biocon.2013.03.027.
- Tropek, Robert, Tomas Kadlec, Martin Hejda, Petr Kocarek, Jiri Skuhrovec, Igor Malenovsky, Stepan Vodka, Lukas Spitzer, Petr Banar, and Martin Konvicka. 2012. "Technical Reclamations Are Wasting the Conservation Potential of Post-Mining Sites. A Case Study of Black Coal Spoil Dumps." *Ecological Engineering* 43 (June): 13–18. doi:10.1016/j.ecoleng.2011.10.010.
- Tropek, Robert, and Jiří Řehounek. 2012. *Bezobratlí postindustriálních stanovišť: význam, ochrana a management*. České Budějovice: Entomologický ústav AV ČR : Calla - Sdružení pro záchranu prostředí.
- Unrine, Jason M., Charles H. Jagoe, William A. Hopkins, and Heather A. Brant. 2004. "ADVERSE EFFECTS OF ECOLOGICALLY RELEVANT DIETARY MERCURY EXPOSURE IN SOUTHERN LEOPARD FROG

- (RANA SPHENOCEPHALA) LARVAE.” *Environmental Toxicology and Chemistry* 23 (12): 2964. doi:10.1897/03-696.1.
- Van den Ancker, J. A. M., P. D. Jungerius, and L.R. Mur. 1985. “The Role of Algae in the Stabilization of Coastal Dune Blowouts.” *Earth Surface Processes and Landforms* 10 (2): 189–192.
- Wada, Haruka, Christine M. Bergeron, F.M. Anne McNabb, Brian D. Todd, and William A. Hopkins. 2011. “Dietary Mercury Has No Observable Effects on Thyroid-Mediated Processes and Fitness-Related Traits in Wood Frogs.” *Environmental Science & Technology* 45 (18): 7915–22. doi:10.1021/es201084q.
- Wada, Haruka, Daniel A. Cristol, F.M. Anne McNabb, and William A. Hopkins. 2009. “Suppressed Adrenocortical Responses and Thyroid Hormone Levels in Birds near a Mercury-Contaminated River.” *Environmental Science & Technology* 43 (15): 6031–38. doi:10.1021/es803707f.
- Wada, Haruka, David E. Yates, David C. Evers, Robert J. Taylor, and William A. Hopkins. 2010. “Tissue Mercury Concentrations and Adrenocortical Responses of Female Big Brown Bats (*Eptesicus Fuscus*) near a Contaminated River.” *Ecotoxicology* 19 (7): 1277–84. doi:10.1007/s10646-010-0513-0.
- Wang, S, and H Wu. 2006. “Environmental-Benign Utilisation of Fly Ash as Low-Cost Adsorbents.” *Journal of Hazardous Materials* 136 (3): 482–501. doi:10.1016/j.jhazmat.2006.01.067.
- Wilczek, G, A Babczynska, and Z Majkus. 2005. “Body Burdens of Metals in Spiders from the Lidice Coal Dump near Ostrava (Czech Republic).” *Biologia* 60 (5): 599–605.
- Wofková, Gabriela. 2016. “Diverzita Znaků Žahadlových Blanokřídělých Na Stanovištích S Jemným Substrátem.”
- Zákravský, Petr, Zdenka Hroudová, and Ota Rauch. 2004. “Response of *Phragmites Australis* to Heavy Metal Loaded Habitats.” In Kovář, P. *Natural Recovery of Human-Made Deposits in Landscape: Biotic Interactions and Ore/ash-Slag Artificial Ecosystems*, Vyd. 1. Praha: Academia.

7. Přílohy

Příloha 1: Mapa studovaných lokalit v oblasti Polabí

Na mapě je vyznačena poloha všech čtyř lokalit vybraných pro tuto studii, zobrazeno na mapách <https://mapy.cz/>.



Příloha 2: Kladogram

Kladogram, který byl použit pro fylogenetickou korekci v analýzách.

